

610.5

G 2

OCT 4 1940

Medical Library

日本癌學會及財團法人癌研究會發行

癌

“GANN”

**THE JAPANESE JOURNAL OF CANCER
RESEARCH**

Founded by K. YAMAGIWA and Continued by M. NAGAYO

Vol. 35 No. 3

June 1941

Published Bi-Monthly By

THE JAPANESE CANCER ASSOCIATION AND
THE JAPANESE FOUNDATION FOR CANCER RESEARCH



目 次 CONTENTS

- | | | | |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-----|
| 14. 山 田 千 里 | Retroperitoneales Ganglioneurom に就て | 133 | |
| | CHISATO YAMADA: Über einen Fall von retroperitonealem Ganglioneurom. | | |
| | (Auszug) | 148 | |
| 15. 橋 田 雅 人 | 人工色素の抗発癌性に就て(肝癌発生の抑制物質に關する研究)..... | 152 | |
| | MASATO HASHIDA: Über die Antikanzerogenität von künstlichen Anilinfarbstoffen bei der experimentellen Hepatomerzeugung. I. Mitteilung. (Auszug)..... | 164 | |
| 16. 伊 東 祐 晴 | Methylenblau の肝癌発生抑制作用に就て(第2報)..... | 167 | |
| | SUKEHARU ITO: Über die hemmende Wirkung von Methylenblau bei experimenteller Hepatomentstehung. II. Mitteilung. (Auszug) | 182 | |
| 17. 安 藤 德 弘 | 實驗的肝癌發生に及ぼす飼料の影響 第4篇 實驗的肝癌發生と肝油 | 186 | |
| | TOKUHIRO ANDO: Experimentelle Leberkarzinomentstehung und Getreide (IV. Mitteilung) Experimentelle Leberkarzinomentstehung und Lebertran. (Auszug). 201 | | |
| 18. FUMIKO FUKUOKA | : Effect of Gibberellin on Tissue Culture. | 205 | |
| | 福 岡 文 子 | Gibberellin の組織培養に及ぼす影響(要旨)..... | 207 |
| 19. WARO NAKAHARA and KAZUO MORI | : Experimental Production of Liver Cirrhosis by Furfural Feeding. | 208 | |
| | 中 原 和 那 }
森 和 雄 } Furfural 飼與による實驗的肝硬變(要旨) | 231 | |
| 20. MATARO NAGAYO | : On Heteroplastic Transplantation of Mouse Sarcoma. | 232 | |
| | 長 奥 又 郎 | マウス肉腫の異種移植に就て(要旨) | 244 |

“GANN”

THE JAPANESE JOURNAL OF CANCER RESEARCH

VOLUME 35

JUNE 1941

No. 3

Retroperitoneales Ganglioneurom に就て*

山 田 千 里

(東北帝國大學醫學部產科婦人科學教室 主任 篠田教授)

(圖版 XXII—XXIII)

(昭和 16 年 2 月 14 日受付)

緒 言

後腹膜腔には周知の如く多種多様なる腫瘍の発生をみると神經腫瘍は最も稀有なるものに屬す。神經組織たる神經纖維及び Schwann 氏鞘より構成さるゝ腫瘍を神經腫 Neurom と謂ひ, Odier (1803) は甫めて末梢神經に發生せる腫瘍を該名稱のもとに記載せり。而して有髓神經纖維より成るを Neuroma myelinicum, 無髓神經纖維より構成さるゝを Neuroma amyelinicum とす。又腫瘍中の神經物質の量的關係より眞性神經腫 echte Neurome, 假性神經腫 falsche Neurome に區別し, 前者は即ち神經節細胞腫 Ganglioneurom にして神經細胞自身は増殖により其の數を増し, 神經纖維は該細胞の產物なりと信ぜられ, 後者は元來神經の Fibrom にして Neurofibrome とも稱せらるゝものなり。Neurome 即ち神經節細胞を有せざる神經腫の存在は今日なほ疑問視せられ未だ其の確實なる發表なく, Ribbert の如きは有り得べからざるものなりと言ふ, 反之神經纖維と神經節細胞とを有する神經腫瘍は周知の如く Ganglioneurom といはれ, embryonale Neurocyten の病的に變化發育せる Neurom なり。一般に結締織は急速且豊富なる再生をなすも, 神經組織の再生は極めて輕微なるか又は全く再生せざるものなるを以て, 組織分化の最高度なる神經節細胞及び神經纖維より發生する Ganglioneurom が極めて稀有なるは敢て偶然に非ず。

本腫瘍の發表に關しては Loretz (1870) を以て嚆矢とし, 其の後 Soyka (1877), Axel Key (1879), Weichselbaum (1881), Busse, Borst (1897), Knauss, Chiari

*本論文の要旨は昭和 14 年東北醫學會總會にて發表せり。

(1898), Haenel, Williamson, Brüchanow, M. B. Schmidt (1899), Rosenbach, Beneke (1901), Kredel-Beneke, Glockner (1902), Fabris (1903), Benda (1904), Glinski, Ohse, Woods (1906) 等あり、近年 W. Stoeckel, Sippel (1923), H. O. Neumann (1927), Fels, Olsen (1933) 等の報告に接し、余の調査によれば 52 例に達するも我國に於ては最近藤岡 (1938) の報告を見るのみ。

余は 14 歳 1 ヶ月の少女に本腫瘍を見、而も諸家の例と異り腫瘍の一部に悪性変化を認むるところを得たるを以て益々興味深きを知り茲に報告し諸賢の批判を仰がんことをす。

症 例

福○と○え、14 歳 1 ヶ月、女學生。家族歴 父母健、兄妹 8 人凡て健在す。本人歴 患者は満期正常分娩にて生れ、2 歳の時両親は右下腹部に鶯卵大の硬き腫瘍を發見せるも、何等苦痛を訴へざるを以て放置するに徐々に増大し、自覺症狀は全く缺如するも遂に現在の超兒頭大に達し、昭和 13 年 12 月 9 日當科外來を訪づれ直ちに入院す。初經 13 歳 8 ヶ月、爾來順調 6—7 日、中等量、經時苦痛なし、終經昭和 13 年 11 月 25 日より 7 日間。

現症 體格中等大、栄養佳良、貧血も浮腫もなく、胸部諸臓器に異常を認めず。腹部殊に下腹部強く緊張し、内に圓形厚壁の硬き腫瘍を觸知す。該腫瘍は超兒頭大にして上縁は臍上一横指徑に及ぶ。内診により、腫瘍の一部には波動を認め且つ平滑にして硬き部分をも觸知す。子宮とは個別に觸るゝも多少の癒着ありて共に移動せしめらる感あり。下肢に運動竜に知覚障碍なく浮腫を認めず。赤血球 479 萬、白血球 16000、血色素 67% (Sahli)。赤血球沈降速度 30 分 4 mm、60 分 15 mm。尿には全く異常を認めず。血壓 126—80 mm Hg。診断、左側卵巢皮様囊腫。

手術 全身麻酔の下に開腹するに、右側卵巢に新鮮なる黃體を認むるのみにて、子宮及び卵巢に異常なし。腫瘍は右側後腹膜腔に存在するを確認せしめて、後腹膜に縦切開を加へ腫瘍の活動部を穿刺吸引するに漿液性暗赤褐色液 50 cc を得たり。腫瘍の上端部殊に脊柱側には多數の血管集簇を認め、瘻者は右後方に廣汎、脊柱右側に於て最も強度にして剥離困難なり。右側精糸動脈は鉛筆大に擴張し緊密に腫瘍上を走行せしも、完全に分離せるを以て腫瘍上端の一部を破碎除去し、最も緊密なる腫瘍の瘻着個所を明かにせし後、辛うじて腫瘍全部を摘出せり。手術に因る出血 200 cc。

手術後経過 手術極めて困難にして長時間に亘り、術後の全身状態悪化し血壓 60—0 mm Hg となり、Ringer 氏液 2000 cc、30% 葡萄糖 50 cc、Vitakampfer 及び Digifolin 等の注射により一時小康を得。翌朝に至り右下肢に浮腫出現し自働的運動不能となる。血壓 86—40 mm Hg。輸血 100 cc、5% 葡萄糖 800 cc 點滴注腸。正午遂に全身状態悪化し午後 2 時鬼籍に入る。

腫瘍の肉眼的所見 超手拳大、重さ 1400 g、表面に特別の被膜なく不平等なる隆起

あり、硬くして纖維腫を思はしむるも、一部に鶯卵大の軟化様脆弱部ありて暗赤褐色液及び脆弱物質を充つ。實質性部の割面は、淡黃白色浮腫状を呈し、光澤ある纖維性にして、纖維束は種々の方向に走行し、相錯綜するを見る。尙ほ囊胞様部に近接して扁豆大淋巴腺1ヶを認む。術後診断、後腹膜纖維腫。

組織學的所見並に考察 標本は 10% Formalin 液に固定後、Hämatoxylin-Eosin 重染色、van Gieson 氏法、Eisenalaun-Hämatoxylin 法、Bielschowsky 氏法、Ramony-Cajal 氏法、木村教授渡銀變法、Sudan III 染色を施して検鏡す。軟化様脆弱部に於ては極めて多數の小血管散在し、其の周圍に淋巴球より小なる短紡錘形又は橢圓形細胞密集し、稍々放線状の排列を示し典型的ならざるも向日葵又は蘿菊の如し、然れども該細胞中には卵圓形を呈するものあり、加之大きさ全く均等ならず。核は濃染し原形質の認むべきもの殆んじなし。是等の血管周邊に菊花状を呈せる各細胞巢の間は、發育迅速なる部位に於ては壞死に陥れるも尚よく小細胞の形骸を示し淡染し、且血管は血液充盈せる所謂栄養障礙に因る壞死竈を呈す。脆弱部附近の組織内及び組織間隙には、前記細胞より小にして一樣の大きさを有し核は更に強く濃染し原形質を認めざる小細胞の廣汎性存在を認む。此の圓形細胞集簇は實質性部に於ける血管周圍、淋巴管或は組織間隙に挿まれて存し、又夫れ等の間隙を見出でて發育せんとするを見る。組織間隙を侵入する lymphoides Gewebe は恰かも淋巴球の如く見え、且實際に於て淋巴道内に2列に存する淋巴球も見らるゝも、稍々大なる集簇に於ては凡て正圓形を呈するに非ずして種々の形態を示し、又原形質を次第に増加するを見る。又斯の如き集簇の小なるを追窮する時は、血管周圍の淋巴道を通じ更に大なる集簇に連續するを知る。大なる集簇に於ては正圓形の小核を認むることあり、或は該邊縁部に恰も淋巴球のみより成るかの如き集簇を觀ることあり。故に是等の多くは Peritheliom となる初期の細胞が宛然淋巴球の如き形貌を呈するものにして、verirrter Keim としての lymphatisches Gewebe の存在も可能なるも、本例に於ける lymphoides Gewebe と Peritheliom は同一素性と考へられ、形態學的には Sympathogonien と看做して差間なかるべし。

軟化様脆弱部より稍々離れし實質性部に、扁豆大の上記の如き peritheliomatös に變性せる個所存するも、未だ壞死を呈することなく且又核分裂を認むる能はず。

實質性部は一見纖維腫の如き感を呈するも、波狀或は直線狀に種々なる方向に迂曲蛇行して走行し相錯綜せる緻密なる神經纖維束より成り、且殆んじて無髓神經纖維にして、極めて僅少の有髓神經纖維を混す。纖維束間は極めて繊粗なる所あるも緊密

なる纖維束内には神經節細胞の散在、密集或は全く片影だに認めざる所あり。神經節細胞は一般に夫れとして認め得るも完全ならず、所謂 abortive Form なり。細胞は比較的小にして種々なる形態を示し殆んと凡て單核性なり、而して核は概ね細胞の周邊に近く位するも、極めて稀に2核なるものありて即ち幼弱型乃至不全發育型を示す。固より、腫瘍實質内に於ける神經節細胞は神經纖維の腫瘍性増殖により生ぜる病的細胞なるが故に、生理的發育過程に於ける神經節細胞とは其形態の同一視すべからざるは言を俟たず、且又其の多種多様なる形態を混淆せるは理の當然なるものと言ふを得ん。

細胞體及び核は不明のもの多く、核分裂像を認めず、稀に原形質は微細顆粒状を呈し、到る處に原形質の液化せるを散見し、細胞は膨大淡染し淋巴管横断で誤り易し。核は濃染し不明のものを見、核小體も普通染色に於ては一般に明かならざるも、Sudan III にては稍々核の一方で明かに偏在するを見る。空胞形成の認むべきものなきも、原形質の körnige Degeneration 或は hyalin-tropfige Mischung の像を見、又淡褐色の顆粒を有するを認むることありて之は一種の Pigmentdegeneration 又は崩壊物質の顆粒で看做すべきものにして脂肪には非ず。腫瘍の極めて菲薄なる被膜内には多數の神經節細胞を認む。

神經纖維間には少量の淋巴球並に Plasma 細胞散見され、且極めて幼若なる結締織細胞を考へらるゝ小なる濃染せる細胞を見る。實質性部の血管分布は疎にして、其壁は殊に動脈壁に於ては一般に著しく肥厚し管腔狭小となり、或は時として其の閉鎖せる感を抱かしむるものすらあり。軟化様脆弱部周邊の壞死部に於ては、毛細血管も壞死に陥り石灰化を招來し多核性巨大細胞を示すも、核は濃染し互に融合或は渦巻状となり異物巨態細胞の像を呈し、其の周圍には比較的細胞に乏し、又實質性部内に轉移せる Peritheliom の一部にも、Hämatoxylin に濃染せる不規則なる毛細血管の石灰沈著像を認む、之は栄養障礙に因る dystrophische Verkalkung で看做すべきものなり。

轉移 主腫瘍に近接せる扁豆大淋巴腺の大部分は、peritheliomatös に變性悪化せるものが轉移し來りて其像を呈するも未だ壞死竈を認めず。附近の靜脈内には夫れを構成する腫瘍細胞群を見る、之れ實に靜脈を通じて轉移せんとする像にして、恐らく腫瘍が淋巴腺内にて靜脈壁を穿破し侵入せるものならんと思考さる。

以上の觀察よりして纖維性物質を結締織で目さば纖維腫の如く思惟さるゝも、其走行の種々難多にして迂曲蛇行するより以てしても之を否定し得。又動脈所見は Neuro-

fibromatosis cutis Recklinghausen に於けるものに類似するも動脈枝は寧ろ少し。Peritheliom に於ては壞死性囊胞形成を示すこゝなきが故に、之を以て主腫瘍なりと肯定し得ず。各種の染色にて *Schwann* 氏細胞より分化せる纖維と看做す可きものを證明し、*Bielschowsky* 氏法にて検する時は明らかに神經性纖維物質を認め、又神經節細胞の存在明瞭となり主腫瘍は即ち *Ganglioneurom* なるを知る。

要するに主腫瘍は交感神經の *Grenzstrang* に於ける先天的異常胚原基 *Keimallage* より發生し、其發育經過中に恐らく *Ganglioneurom* を形成するものが腫瘍性増殖をして、或は Peritheliom となり、或は *mesenchymatöse Elemente* と混じ lymphoides Gewebe となれるものにして、前者は變性悪化し腫瘍實質内或は近接淋巴腺に轉移せしものなるべし。

文献的觀察並に考按

病理組織學的方面

名稱 *Virchow* は gangliöse Elemente を有する神經腫瘍に *zelluläres Neurom* なる語を與へしも、gangliöse Neurome, gangliforme Neubildungen とも稱せられ、其後次第に *Ganglioneurom* 又は *Neurogangliom* なる名稱が一般に使用されるに至りたるも、其他 ganglienzellhaltige Nervenfasergeschwülste, ganglionäres Neurom, Fibroneuroma gangliocellulare, Neuroma gangliocellulare, Neuro-gangliofibrom とも稱せらる。

肉眼的所見 本腫瘍は一般に單發性にして、多發性のものには *Soyka* (1877), *Knauss* (1898), *Kredel-Beneke* (1902), *Falk* (1907), *Verocay* (1908), *Risel* (1909) 等あるも罕なるものと謂ふべし。*Kredel-Beneke* の例の如きは全身皮下に約 160 個の帽針頭大乃至腎大の腫瘍存在し、*Knauss* も手足を除く全身皮下殊に腹部に最も著しき例を認めたり。大きさは蠶豆大 (*Haenel, Brüchanow*), 櫻實大 (*Weichselbaum*), 梅實大 (*Axel Key*) より兒頭大 (*Borst, Beneke, Braun, Brossok*), 更に人頭大 (*Beneke* 第 2 例, 藤岡) に達するものあり。表面は *Beneke, Busse, Glockner, Ohse, Falk, Braun* 等の如く大多數の例は圓形平滑なるも、時に結節を有することあり、然れども、余の例の如く凹凸不平等のもの (*Beneke, Brossok, Sato*) も尠からず。又本腫瘍は一般に被膜を有し周圍との境界判然たるものにして、之は其發育緩徐なるこゝと共に本腫瘍の良性のものなりとする所以なり。又血管に乏しことは言はるゝも屢々大なる血管と密接なる關係を有することあり (*Glockner, Braun, W. Stoeckel, M. B. Schmidt, Ohse* 等)。肉眼的に交感神經に於ける *Ganglioneurom* の發生を最も

適切に證せるは *Falk* (1907) の例にして、腫瘍は肝・腎の間に介在し其大部分は左側、一部は右側に發育し大空靜脈幹を完全に被ひ、其背面に *Ganglion coeliacum* の輪廓ありたり。剖面は灰赤色又は灰白色にして神經纖維束のため一様に微細なる纖維性を呈するこゝ多く、而も硬度よりして子宮纖維腫 (*Weichselbaum, Brüchanow, Glockner, Glinski, Friedrich, Sato*)、子宮筋腫 (*Busse, Braun, Stoeckel*)、纖維筋腫 (*Beneke, Miller*) 又は纖維脂肪腫 (*Oelsner*) 等を思はしむ。余の例も其の硬度並に纖維束よりして軟化様部を除きては纖維腫を思はしむるものなり。

組織學的所見 本腫瘍の性状を病理解剖的に始めて證明せるは *Beneke* (1901) なり。本腫瘍は相交錯せる無髓神經纖維中に數多の神經節細胞を見るものにして、人體中此兩者を多數見る所は交感神經線帯及び本腫瘍あるのみなり。檢鏡所見は一般に酷似し、腫瘍の主要部分を形成するは波狀に不規則の排列を示す細き纖細なる無髓神經纖維にして、少量の結締織により纖維束を構成す。而して有髓神經纖維は極めて少量にして、其隨鞘は不完全なるか又は完全に缺如し、場所によりて其構造種々なり。*Glockner* は斷裂する髓鞘を觀察せしも、*Haenel* の例に於ける夫れは發育極めて不充分なりしこ言ふ。反之、*Oberndorfer* の例は全く隨鞘を有せざる *nackte Achsenzylinder* 極めて多く、而も腫瘍の主要部をなせり。

神經節細胞は實に本腫瘍の特色を示すものなるも、或例 (*Bischoff, Günsburg, Klebs, Soyka*) に於ては該細胞所見の疑はしきことに就ては既に *Virchow* 及び他の學者 (*M. B. Schmidt*) の注目する所なり。一般に本腫瘍に於ける神經節細胞は神經纖維間に散在し、或は 5-10-15 乃至は 25 個の細胞聚りて集簇を形成するも、其量的關係は種々なり。*Stoeckel* の例に於ては極めて多量に存在し、一部は稠密し相互の壓迫を受け往々全視野を占むることあり。*Kredel-Beneke* の例は興味あるものにして、腫瘍の最外層に於て脂肪細胞及び横紋筋の傍に神經節細胞存在し、而も神經纖維見られざるを以て該細胞は一種の遊走により周邊に達せるものにして、*His jun.* の言へるが如く生理的交感神經細胞の *eigentümliche Wanderfähigkeit* を本腫瘍の細胞は或程度有するものならんとせり。

神經節細胞の形は單一的なるものに非ずして、小圓形、卵圓形、多角形乃至は不規則形等ありて、*Brossok* の如きは辛うじて認め得る程度の輪廊なきものに甚だしく退行せるを見、*Brüchanow, Beneke, Glockner, Wegelin, Hagenbach* は幼若乃至著しき破壊型等に至る各種階段のもの、散在するを觀察せり。*Beneke* によれば、神經節細胞の短命にして種々の退行型を示すは *funktionelle Minderwertigkeit* のためとなせるも、*Wegelin* は之に反對す。神經節細胞の大きさも極めて多様にして、淋巴球大 (*Kredel, Beneke, Wegelin*) のものを觀ることあるも、一般に脊髓神經節に於ける神經節細胞と略々同大にして、更に巨大細胞を形成するものすらあり。*Sato*

の例に於ては稠密なる時は小にして不規則形をなし、散在するものは極めて大にして典型的形態を具有す。Hook の観たる該細胞は一般に明澄にして Nissl'schollen を有するものありて、殊に細胞の周邊に向ひ小塊様造構を明示す。又 Borst, Benda, Brossok, Friedrich の例に於ける原形質は顆粒状を呈し、Glockner, Wegelin, Sato も微細顆粒状なるを認めたりと言ふ。而して Wegelin は大なる神經節細胞の周邊に大小の集塊をなして存在する光線屈折力強き顆粒を認め、淡帶黄色にして色素顆粒状を呈し、Weigert 氏體精染色法にて黒染するを以て、該顆粒と髓鞘とは近似の化學的組成を有するならんとせり。尙神經節細胞内に空胞形成 (Glockner, Wegelin, Miller, Hook, Brossok, Sato, Friedrich) 或は色素沈著 (Woods, Oelsner, Hagenbach, Brossok, Sato) の見らるゝことあり。周知の如く交感神經節細胞には思春期以後、多くの淡黄乃至帶褐色素顆粒の出現するものにして、Graupner の研究によれば、交感神經節細胞に於ける色素沈著は、健康なる若人には缺如するも、成人に於ては殆んど平等に存在し、老人には高度となる。此色素沈著は病的現象と解し得ずして、色素全くなきは jugendliche Zellindividuum なることを示すものなりとせり。Wegelin は其研究に於て、幼若交感神經節細胞に見る顆粒は Ganglioneurom に於けるものと稍々類似し、脂肪粒に Myelin 顆粒は一部色素を有せずと言ふ。更に、Sato は Eosin に可染性の光澤ある小顆粒を認め、脂肪滴なりと考へ、Borst は Myelin 反応を呈する顆粒及び小塊を突起分岐部の極に認め、Knauss も類似所見を得て、之は該細胞原形質の異常なる化學的性質に基くとせり。神經節細胞の核は殆んど凡て多核にして、核の發育著しく 10 (Borst) 又は 15 個 (Oberdorfer) に達するものあるも、幼若型は概して單核なり。Glockner, Wegelin, Stoeckel, Neumann 等は 2 核以上のものを認めざりき。核は大にして泡状、一般に細胞の中心に位置することなく、核小體も大にして核の周邊に存す。核及び核小體の染色性は良好なり。Oberdorfer は核の Ringstellung を報告し、之は Beneke の謂ふ „kranzartige“ Kernstellung の概念に類似するものなり。Brossok も冠状又は輪環状なるを見、屢々核の破壊現象を認めたり。屢々神經節細胞内に Karyomitose 証明せられ (Weichselbaum, Beneke, Kredel-Beneke, Falk) Beneke は本腫瘍を成生するは實に此の細胞にして、之より形成される神經纖維が本腫瘍の主要部をなすとせり。然れども核分裂像の全く認められざること多く (Glockner, Wegelin, Miller, Hagenbach, Hook, Sato, Stoeckel), Brossok の如きは本腫瘍には増殖及び破壊を同時に見ると言ふ。Fels (1933) の例は興味あるものにして、32 歳の婦人に於て左側骨盤壁に固着せる手拳大的腫瘍は、unreifes Ganglioneurom 又は Sympathoblastom の語に相當するものにして、完全に成熟せる神經節細胞は一個もなく、其前階程たる少數の Sympathogonien 及び多數の Sympathoblasten を認め、之は Sympathoblasten と神經節細胞間の發育期を示す Ganglioneuroma immaturum とも看做し得と言へり。神經節細胞突起は、一般に一乃至數個存するも、個々の剖面に於ては概ね認め得ず、而して屢々硝子様變性 (Beneke, Wegelin) に陥れるを認むることありて、Wegelin は突起なきため其特色を全く示さざる神經節細胞をも認めたり。腫瘍に於ける血管は、Hook の

例に於ては主に周邊に存在し、内部にすゝむに従ひ減少し、或るものに於ては可成り厚壁にして、*Sato* は内被細胞僅少にして壁の肥厚せるを観たり。其の他の所見として、腫瘍組織内に石灰電を認むることあり (*Glockner, Benda, Brossok*)。肥続細胞も屢々観察され (*Falk, Miller, Wegelin, Hook, Friedrich*)。*Hook* の如きは之に著明なる Metachromasie を認め、*Wegelin* は本細胞の出現を慢性炎衝性刺載に基く二次的のものに過ぎずとせり。*Glockner, Oberndorfer* は血管周邊に圓形細胞浸潤を認め、*Oberndorfer* の如きは神經節細胞の幼若型及び前階級なりとし、*Weichselbaum* も類似所見を得て之が分化に就き一言せしも、神經節細胞を生ずるや否やに就ては觸れざりき。*Wegelin* も亦血管周圍に類似所見を認めしも之を淋巴球となし、*Hook* によればこは lymphocytäre Natur にして、小なる炎衝竈たる以外に意義なしと断じ、*Beneke, Miller, Sato* も同様に lymphoide Elemente の存在を観察せり。

余の例に於ける組織學的所見並に観察に就ては前章に詳述せり。

轉移 本腫瘍は一般に良性なりとさるゝも、時に悪性變化をなし轉移をなす、就中近接淋巴腺に該轉移竈を見る。即ち *Beneke* の得たる腫瘍の細胞増殖著明なる部に於ては、神經節細胞は巨大細胞を形成し多角形にして、原形質は僅少、核は冠状をなし、到る處に神經節細胞の強度の破壊產物を認め、近接淋巴腺に於ける所見は、主腫瘍に全く一致する悪性腫瘍細胞ありて癌類似の増殖を示せり。又 16 歳少女に見たる *Miller* の例は、近接淋巴腺に主腫瘍と同じく神經節細胞及び無髓神經纖維ありて、lymphoides Gewebe も廣汎に存せり。*Brossok* の例は更に興味あり、後腹膜淋巴腺のみならず肺肝轉移をも招来せるものにして、氏は自己及び *Beneke* の例は肉眼的並に組織學的所見よりして、良性の Ganglioneurom が悪性化せるものと考ふるを得と謂ふ。*Jacobsthal* も肝に多數の轉移竈を認めたる。

余の例に於ける近接淋巴腺は、大部分が主腫瘍に於けると同様の像を示し、以て變性悪化せるものが轉移し來りたる事を立證するに足り、更に興味あるは該腫瘍細胞群を淋巴腺附近の靜脈内に認めしこなり、之れ恐らく淋巴腺内の靜脈壁を穿破し進入せるものにして、靜脈を通じ轉移せんとする像なりと思考するを得。斯の如きは文獻に其例を見ざる最も興ある處なり。

臨牀的方面

症狀 本腫瘍は剖檢による偶發所見なること多く、實に全例の 40% を占む。然らざるものに於ても、發育に關しては例外 (*Busse, Knauss, Beneke, Ohse, Miller*) はあるも一般に極めて緩徐にして、通常症狀を現すことなく経過す。余の例も亦然り。腫瘍增大する時は腹部膨満、重感、壓感、横隔膜上昇に伴ふ心肺の影響及び周圍組織壓迫による障礙として薦骨痛、臀部の發作的疼痛、腰部の穿刺痛及び下肢痛或は血管壓迫に因る特に精索靜脈の怒張等を招來することあり、さ

れど一般に障害少く、背部痛(Beneke)或は膝關節部に生ぜしめたる膝部疼痛(Hagenbach)あるものあり。Williamson の 21 歳處女に見たる例は、左側薦骨前壁に於ける癰著により後方に介在する神經叢を壓迫せるものにして、既に 14 歳より左腰部の發作的疼痛ありき。Busse の例は直腸膀胱麻痹、下肢運動障害、尿淋瀝及び尿閉ありしも、腫瘍の一部剥出後殆んど快癒せしめて腫瘍の壓迫に因れるものなりしならん。Rapp の例も脊髄壓迫せられ、下肢麻痹、知覺障害、失禁及び脊柱筋麻痹に基く脊柱前彎症あり。Brossok の 11 歳少女に認めし例は蟲様突起炎として治療を受け、Glockner は頭痛、眩暈、左脅の發作的疼痛を訴へ極めて羸弱せる 38 歳婦人の例を経験し、Neumann の例は強度出血のため貧血せる 14 歳少女なり。Glinski は生後 7 ヶ月に既に左側頸部に腫瘍ありて、次第に呼吸障害及び交感神經の壓迫徵候出現せるを見たり。又平素何等の症狀なかりしも、分娩時初めて障害を來せしものに Beneke, Law, Breitung, Sippel, Olsen の例もあり。

年齢及び性 一般に後腹膜腫瘍は女性に多く(Gäbal u. Vegesack, Schmid), Schmid の廣汎なる統計に於ても女性は 77% を占め、Ganglioneurom に就ては、Richard に據れば女性而も若年に多しと言ふ。然れども Brossok は 27 例中男 9、女 18 にして、年齢に關しては第 1 表の如く 10 及び 20 年代の若年者に多きかの如きも、之を以て直ちに先天的素質によるとの推論を下し得ずとなす。余の調査せる 53 例中記載確實なる 49 例に就て観れば第 2 表の如し。即ち若年者に特に多く、就中 20 歳以下のものに多きを知る、之は恐らく此の年代に及べば、既に以前より發生せしものが次第に増大して種々の障害を惹起するに至ることの多きに由るなるべし。最年少は 3½ 歳(Peters)、4 歳(Busse, Fabris)、最年長は 76 歳(Weichselbaum)なり。

男女の比は、Sato に據れば 1:2 にして女に多きも、諸家の認むる如き女性に頻發する事實

第 1 表 (Brossok)

年 齡	例 數
1—5	4
6—10	2
11—15	4
16—20	7
21—25	4
26—35	4
36—50	2
總 計	27

第 2 表 (著者)

年 齡	例 數
1—5	7
6—10	5
11—15	5
16—20	12
21—25	5
26—30	1
31—35	5
36—40	4
41—50	1
51以上	4
總 計	49

第 3 表 (著者)

年 齡	例 數
1—10	5
11—20	15
21—30	5
31—40	4
41—50	0
51以上	2
總 計	31

(Friedrich 63%)に對しては本腫瘍の例數多からざるの故を以て確定的なりとは即断し得ますな
す。然れども諸家の統計より遙に多き余の調査せる 53 例中記載確實なる 47 例に就て観れば、男
16, 女 31 にして、Sato の如く女性は男性の 2 倍に達す。且女性中にても殊に年少なるものに
多きことは第 3 表より明かなり。故に本腫瘍は若年女性に頻發するものと確信し得べし。

手術前診断 一般に後腹膜に發生せる腫瘍は、其發生地及び位置に關して的確なる診断を下し
難く、結腸及び S 字状部の空氣擴張法 (Amman), 脛肘位に於ける直腸診 (Terillons) を推す者あ
るも、本腫瘍の頻度極めて小にして其の特異症狀なきことより、之が術前診断は殆んど不可能事
に屬すと謂ふべきなり。從て後腹膜肉腫 (Falk), 脊椎骨肉腫 (Sato), 纖維腫 (Chiari, Busse),
纖維肉腫、脂肪腫、纖維脂肪腫 (Oelsner), 腎腫瘍 (Ohse, Braun), 卵巣腫瘍 (Fels), 蟲様突起炎
後の腹膜炎 (Brossok) 等とせられ、余の例の如きは既に 2 歳より腫瘍を認め、而も一部に波動
を觸知せるを以て卵巣皮様囊腫と誤診せるなり。稀に後腹膜腫瘍ならんと思考せられたるもの
あれど (Glockner, Falk, Braun, Oelsner, Sato, Rapp), 術前確診を得たるものなく、後腹膜腫
瘍の蓋診を以て甘受すべきなり。

手術 後腹膜腫瘍に於ては、Lumbalschnitte 即ち Pararectalschnitte より腹膜外摘出せるを
みるも (Bardenheuer, Gould, Piquaud-Dreyfus), Ganglioneurom に於ては其例なし。後腹膜腫
瘍は手術困難にして長時間を要し、交感神經障礙等による Schock 等のため死亡率高く、Goebel
は 15 例中 10 例、Schmid の統計に據れば 115 例中 20% を占む。本腫瘍が交感神經の Grenz-
strang 及び其の骨盤叢より生ぜしものなる時は著しく大となりて外科的興味を喚起するものな
り。Beneke, Braun の例の如く、位置酷似し腫瘍の一部に大動脈の埋没することあり、而して
Braun は剥離中其の大動脈を損傷せるため血管切除後循環縫合に成功せり。又 Falk の如きは緊
密に癒着せる下空靜脈を損傷し遂に出血死に到らしめたり。然れども骨盤内に生ぜるものに於
ては、血管及び周邊との癒着強度なるため剥出困難なることありて Law の例の如く薦骨切除が
時に奏效することあり、又血管 (Busse, Sippel), 骨盤 (Neumann) に對する癒着著しく腫瘍の
一部を残さざるを得ざることあり。轉移 (Beneke, Miller, Jacobsthal, Brossok) ある場合は一層
困難なるは論を俟たず。

開腹後に於て後腹膜腫瘍と思考されるとき、鑑別診断上注意すべきは肉腫、纖維腫、畸形腫、癌
腫、内被細胞腫、粘液腫等及び是等各種腫瘍の變性せるもの、又は最初より混合腫瘍の形にて發
生せる纖維脂肪腫、粘液脂肪腫、粘液肉腫、纖維肉腫、纖維粘液腫あるも、是等は何れも遙に稀
有なり。而して Witzel は斯の如き場合は肉腫と考ふるを以て至當なりとす。術後に於て虚脱其
他の症狀發現すること尠からず、Oelsner は此の虚脱は手術に因る交感神經「ショック」と關係あ
るべしと言へるも、Glockner は腸管麻痺を思はしむる重篤なる症狀は交感神經の外傷に因るか
否か不明なりと云ふ。Ohse の例は術後 20 時間にて突然死亡せるが、該死因の一部は胸腺體質
に基くと謂ふ。Oberndorfer の例は急性蟲様突起炎にて死亡し、剖検の結果 Ganglioneurom を

發見せるものにして、*Oelsner* は術後 10 日に急性蟲様突起炎を起せる例を経験し、此の兩者併發せるは偶然に非ずして腫瘍形成に基く交感神經系統の障礙に因ると謂ふ。手術により治癒せるものに *Perls, Busse, Knauss, Williamson, Glockner, Glinski, Oelsner, Braun, Macnaughton, Law, Freund Paula, Rapp, Peters, Sippel, Stoeckel, Fels* 等あるも、死亡せるものに *Beneke, Ohse, Falk, Brossok, Neumann* 等ありて *Beneke* の例以外は虚脱に因るものなり。本腫瘍治療唯一の方法は早期診断及び手術あるのみにしてヒ線照射を行へる例を見ず、之は剖検により初めて發見さるか或は診断の殆んど不可能なるによるべし。一般に腹部腫瘍は早晚外科的療法を要するものなるを以て、診断不確実なるか又は後腹膜腫瘍の疑あらば試験的開腹術をなすべきなり。腫瘍を認知しつゝも特別の症狀なきの故を以て放置せんか、余の例に於けるが如く益々增大すれば惡性變化の惧あり、若し惡性變化の兆を認めなば、著變あらずとも近接淋巴腺の摘除を實施すべきは論を俟たず。

腫瘍發生の原因、部位、頻度並に其の統計的觀察 本腫瘍は身體各所に見らるゝも、神經節細胞の存する所にのみ發生する故に、殆んど例外なく交感神經系統及び胎生學的に之に親近なる副腎髓質に出現し、其他臍脊髓神經竇に中権神經系統に發現することあり。*Nadine Ott* は犬、猫、家兎の上臍神經叢及び腰薦神經叢に多くの神經節細胞を見出せり。人類に於ては斯の如き「迷入」神經節細胞 „verirrte“ Ganglienzellen は動眼神經の根幹及び脊髓前根にのみ見出され居るも、*Wegelin* は系統的研究により他の神經に於ても該細胞群は見出されるべしと言ふ。本腫瘍は極めて罕なるものにして *Hook* (1911) は 34 例、*Brossok* (1911) は 31 例を聚め、*Schmid* (1923) は後腹膜及び腸間膜腫瘍 267 例を拾集し、前者は 51.7% を占め、Ganglioneurom は僅かに 10 例のみと云ふ。發生原因に關しては種々の假説ありて、*Bohnen* は先天的因素によるとなし、*Sato* よれば神經節細胞は交感神經叢より Auswanderung により副腎内部及び周圍に發育するを以て、該経過中の障礙により直ちに Keimverlagerung 惹起さるゝが故に、牽強附會の説よりも寧ろ先天的 Keimverlagerungstheorie を以て妥當なりとせり。*Kredel-Beneke* は神經節細胞の pathologische blastomatose Wucherung なりとし、*Friedrich* 之に賛す。*Braun* も *Ribbert* の信するが如く、恐らく先天的發育障礙により神經組織の blastomatose Wucherung 惹起さるべしとせり。*Wegelin* は發育障礙説に賛し得ずとなし、早期胎生時に發生せる Ganglioneurom の原基 Anlage 存するに因るべしと謂ふ。余の例に於ては主腫瘍は先天的 Keimanlage より發生し、其の發育経過中に恐らく Ganglioneurom を形成するものが腫瘍性増殖をなして、或は Peritheliom となり、或は mesenchymatöse Elemente と混じ lymphoides Gewebe となれるものにして、前者は變性惡化し腫瘍質内竝に近接淋巴腺に轉移せしものと思考す。妊娠との合併は本腫瘍が一般に若年者に見らるゝために極めて稀有に

第 4 表 (著者)

	剖 檢	21
手 術	治 癒	16
	死 亡	5
	不 明	4
	不 明	7
	總 計	53

して、Brossok (1911) は 31 例中分娩障礙ありしものとして僅か Beneke の 1 例を見出せるに過ぎざりしも、余が涉獵調査せる 53 例中には 5 例 (Beneke, Breitung, Law, Sippel, Olsen) を得たり。この中 Sippel の例は術前既に腫瘍による分娩障礙を察知し、加之重症妊娠中毒症のため帝王切開術を施行し、小骨盤内に手拳大腫瘍を發見せるものなり。好發部位は脊柱に沿ふ交感神經の Grenzstrang 及び後腹膜細胞組織の大なる神經節にして、小骨盤内に於て薦骨前面に生じ、ために時として外科、産科、婦人科醫の興味を誘致することあり。

骨盤細胞組織に於けるもの 12 例 (Chiari, Williamson, Beneke, Breitung, Law, Stoeckel, Neumann, Olsen, Fels, 藤岡)，副腎體質又は副腎周圍組織の神經叢より生ずるとするものに Weichselbaum, Brüchanow, Schmidt (Plexus suprarenalis), Fabris, Oberndorfer, Hook, Brossok, Geller, Ribbert ありて、Schmidt 以外は副腎體質より發生せるものなり、Knauss, Kredel-Beneke の例は皮下に多發せる興味あるものなり。Haenel は硬膜膜 (Fissura orbitalis superior dext の附近) に癱瘓せる大豆大的ものを認め、先天的組織異所發生 angeborene Heterotopie と考へたり。Benda の觀察せる頸部側に於ける林檎大的ものは迷走神經節より由來せるものとされ、Axel Key は下眼窓神經 N. infraorbitalis より發生せる鼻翼に於ける例を觀察せり。Schmincke は脣に發生せる認め、Perls は黒内障を來せる 9 歳児の右側眼窓後方に視神經より生ぜる例を經驗せり。Hagenbach の如きは N. saphenus major の分歧より發生せる左側膝關節被膜内に於ける稀有なるものを見たり。

發生部位に關しては、Brossok に據れば第 5 表の如し。又 Hook によれば第 6 表の如し。

副腎に於けるものは Weichselbaum (1811) 初めて見出し、之は髓質内の多數の神經節に由來すると考ふべきものにして、一般に副腎に發生せるものは巨大にならざるものゝ如し。

余の集録せる統計に於ては薦骨前壁に於けるもの最も多くして 12 例、次で腎下方に於て後腹膜に存せるもの 11 例、副腎又は其附近 10 例にして第 7 表の如し。

又、多發性のものに Knauss, Kredel-Beneke, Falk, Verocay, Risel の例あるも、Soyka の 2 例を算入する時は 7 例を數へ、これ以外に見らるゝ本腫瘍は凡て孤立性なり。發生部位側に就て之を觀るに、Brossok によれば第 8 表の如く身體左半部に於けるものは半數以上に達す。余の統計よりするも左半部最も多く 53% を占む (第 9 表)。即ち Wegelin, Brossok, Sato 等の先人の言へる如く余も亦身體左半部に好發するものと思考す。

第 5 表 (Brossok)

發 生 部 位	例 數
胸部神經節	2
副腎	5
薦骨前壁	3
頸部神經節	2
極めて稀なる場所	2

第 6 表 (Hook)

發 生 部 位	例 數
副腎又は其附近	10
腎の下方(後腹膜)	7
小骨盤内(後腹膜)	3
頸部側方	3
胸腔内脊柱側方(後肋膜)	2
硬膜膜	1
鼻翼	1
膝關節	1
大脳	1
Gasser 氏半月形神經節	1

第7表 (著者)

発生部位	例数	報告者
小骨盤内(薦骨前壁)	12	Chiari, Williamson, Beneke usw.
腎下方(後腹膜)	11	Oelsner, Peters usw.
副腎又は其附近	10	Weichselbaum, Brüchanow usw.
頸部側方	4	Benda, Glinski, Woods, F. Paula
胸腔内脊柱側方(後肋膜)	3	Loretz, Benda, Friedrich
腸間膜	1	Macnaughton
硬膜膜	1	Haenel
鼻翼	1	Axel Key
膝關節	1	Hagenbach
大脳	1	Schmincke
Gasser 氏半月形神經節	2	Marchand, Risel
視神經	1	Perls
脳脊髓神經	1	Verocay
種々の脳神經	1	Risel
全身皮下	2	Knauss, Kredel-Beneke

第8表 (Brossok)

発生部位側	例数
身體左半部	18
右半部	4
中央	5
記載なきもの	2

第9表 著者

発生部位側	例数
身體左半部	28
右半部	11
全身	4
兩側	3
記載なきもの	7

本腫瘍の左側に比較的好発することに就き信すべき説明なきも、Wegelin は Herzschlauch の左旋により、左後方に存する venöser Abschnitt は、左側交感神經原基を壓迫することありて、兩側の Sympathicusstränge の發育は不平等を來すことあるべし。而して胎生1ヶ月に於ける心臓は極めて大なるを以て、胸部交感神經のみならず凡ての Grenzstränge に發育障礙を惹起し得るものなりとの Herzschlauch の左旋に因を求むる Strasser の説に賛せり。然れども、本腫瘍は到る處 Grenzstrang の發育障碍生ずる所に發生し得るとの故を以て、Sato は Wegelin に左袒し、彼によれば胎生學的に脊柱左側に生ぜる脾は次第に前方に廻轉し、其の際隣接せる Grenzstrang 又は副腎部に牽引壓を及ぼすことありて、之に基く Zellumlagerung は腫瘍發生の Uranlage となり得とせり。

要するに、左側に多き理由は單に想像に過ぎざるも、種々の畸形(先天的横隔膜「ヘルニア」、Organanlage の缺如)の左側に多きを以てしても、畸形と此の良性腫瘍との間には緊密なる發生學的關係の存する示唆ともなるべし。

結 論

1) 余は2歳にして既に発見され、其後漸次増大するも何等苦痛なく、正常月経も發來せる14歳1ヶ月少女に於ける後腹膜腫瘍を手術し、病理組織學的検索により稀有なる Ganglioneurom なることを確認せる1例を報告せり。

2) 該腫瘍は脊柱右側に於ける交感神經の Grenzstrang より發生せるものにして、先天的異常胚原基より發生せしものと思考す。而して該原基の大半は Ganglioneurom を形成するに至るも、一部の胎生的 Zellelemente は分化することなく Sympathogonien となりて稍々悪性に増加し、或は peritheliomatöses Geschwulstgewebe を形成し且該轉移をみるに至り、或は lymphoides Gewebe の發生を招來するに至れるものと思考さる。

3) 本腫瘍の40%は剖検による偶然發見にして、手術前の臨牀診斷を後腹膜腫瘍と云ふ以上に確診を與ふること殆んど不可能に屬することを述べ、更に本腫瘍の臨牀的並に病理組織學的所見及び發生に關し綜説せり。

4) 而して余の文獻涉獵より得たる本腫瘍の53例は若年の女性に好發し、一般に弧立性(46例)にして、薦骨前壁に發生せるもの最も多く(12例)、腎下方にて後腹膜のもの及び副腎に發生せるものに次ぎ、一般に良性なるも極めて稀には悪性の経過を示り、近接淋巴腺轉移或は肉腫様變性見るこあり。されど余の例の如く腫瘍の一部は peritheliomatös に變性し、加之近接淋巴腺に該變性の轉移を見しものなし。

拙筆に臨み綿密なる御校閲を賜はりし恩師篠田教授、並に検鏡に際し懇意なる御指導と御校閲を忝うせし本學病理學教室主任木村男也教授に深甚なる謝意を表す。

Literatur

- 1) Axel Key, zit. nach Hook, Brossok.
- 2) Bardenheuer, zit. nach H. H. Schmidt.
- 3) Benda, Verhandl. d. deutsch. path. Gesellsch., Bd. 7, S. 266, (1904).
- 4) Beneke, Ziegler's Beitr. zur Path. Anat. u. allg. Path. Bd. 30, S. 1, (1901).
- 5) Borst, Max, Die Lehre von den Geschwülsten, Wiesbaden, S. 240, (1920).
- 6) Borst, Max, Pathologische Histologie, S. 352, (1926).
- 7) Borst, Max, Berl. Kl. W., Bd. 34, Nr. 48, S. 1063, (1897).
- 8) Braun, H., Arch. f. klin. Chir., Bd. 86, S. 707, (1908).
- 9) Brossok, G., Bruns' Beitr. zur klin. Chir., Bd. 74, S. 31, (1911).
- 10) Brüchanow, Prag, Zeitschr. f. Heilk., Bd. 20, S. 41, (1899).
- 11) Busse, Virchow's Arch., Bd. 151, Suppl. S. 66, (1898).
- 12) Chiari, Verh. dtsch. Path. Ges., I. Tagung, S. 96, (1898).
- 13) Falk, F., Ziegler's Beitr. Bd. 40, S. 601, (1907).
- 14) Fels, Zbl. f. Gyn., Bd. 57, S. 89, (1933).
- 15) Freund, Paula, Frankf. Z. f. Path., Bd. 13, S. 266, (1913).
- 16) Freund, Richard, Stoekel, W.: Handb. d. Gyn., Bd. VIII, Teil I, S. 642, (1933).
- 17) Friedrich, J., Frankf. Z. f. Path.,

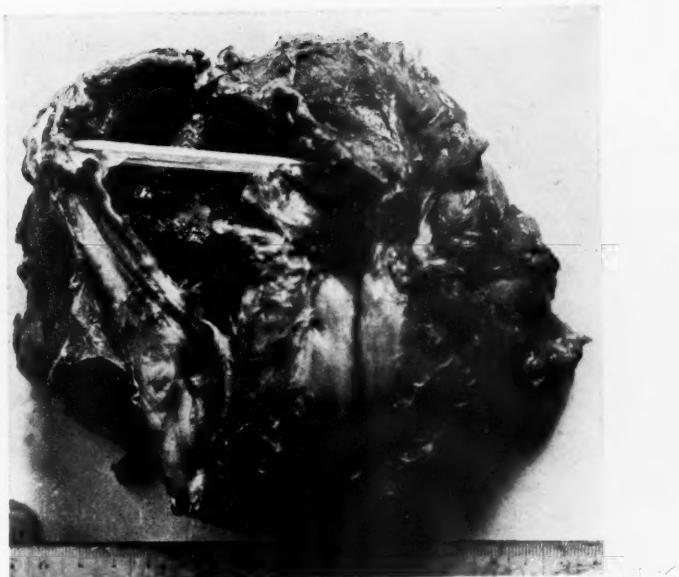


Fig. 1. Exstirpierter Tumor.

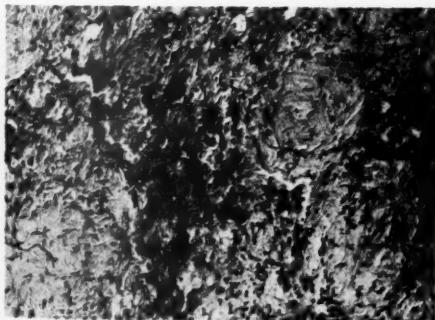


Fig. 2. Ganglionzellengruppe.

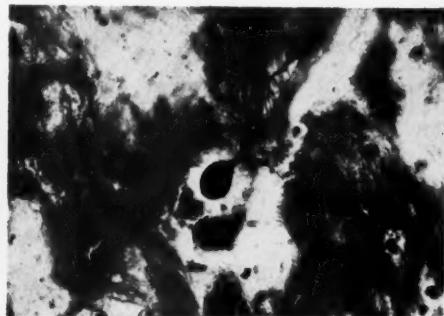


Fig. 3. Unipolare Ganglionzelle nach Bielschowsky.

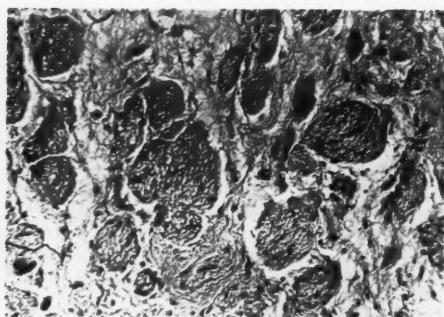


Fig. 4. Quer getroffene Nervenfaserbündel.

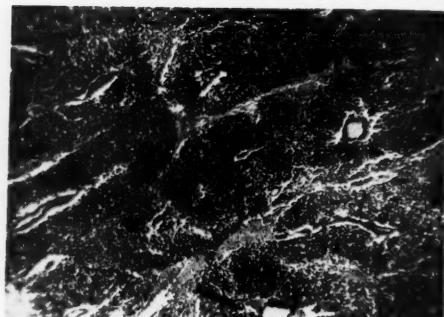


Fig. 5. Peritheliomatöse Veränderung im Haupttumor.

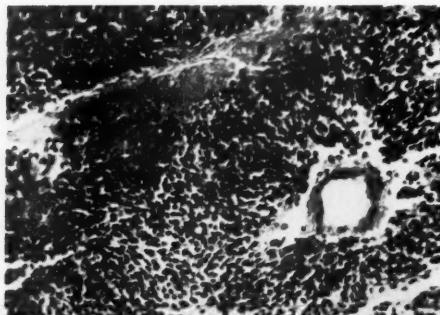


Fig. 6. Bei stärkerer Vergrösserung obiger Figur.

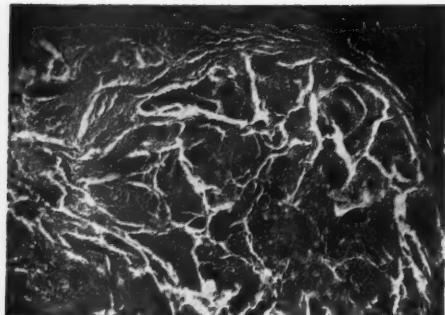


Fig. 7. Regionäre Lymphdrüsennmetastase des Perithelioms.



Fig. 8. Tumorzellengruppe in den Venen in der Nähe d. regionären Lymphdrüsennmetastase.

Chisato Yamada: Über einen Fall von retroperitonealem Ganglioneuron.

- Bd. 10, S. 456, (1912). 18) 藤岡, 日本外科實函, 15卷, 470頁, (昭和13). 19) *Gäbel* u. *Vegesack*, zit. nach *Sato*. 20) *Geller, K.*, Frankf. Z. f. Path., Bd. 14, S. 204, (1913). 21) *Glinski*, Deutsch. med. Wschr., Bd. 50, (1906), (Referat im Zbl. f. Chir.) Nr. 44, (1906). 22) *Glockner, Adolf*, Arch. f. Gyn., Bd. 63, S. 200, (1901). 23) *Goebel*, zit. nach *H. H. Schmid*. 24) *Gould*, zit. nach *H. H. Schmid*. 25) *Graupner*, zit. nach *Wegelin*. 26) *Haenel*, Arch. f. Psych., Bd. 31, S. 491, (1899). 27) *Hagenbach*, Deutsch. Z. f. Chir., Bd. 99, S. 570, (1909). 28) *His jun.*, zit. nach *Kredel-Beneke*. 29) *Hook, G.*, Frankf. Z. f. Path., Bd. 7, S. 135, (1911). 30) *Jacobsthal*, Verh. d. deutsch. Path. Ges., Bd. 13, S. 343, (1909). 31) *Knauss*, *Virchow's Arch.*, Bd. 153, S. 29, (1898). 32) *Kredel u. Beneke*, Dtsch. Z. f. Chir., Bd. 67, S. 239, (1902). 33) *Law*, Surg. gyn. and obst., Bd. 17, S. 340, (1913). 34) *Loretz*, *Virchow's Archiv.*, Bd. 49, S. 435, (1870). 35) *Machaughton*, Lancet, S. 1678, (1912). 36) *Miller, J. W.*, *Virchow's Arch.*, Bd. 191, S. 411, (1908). 37) *Nadine Ott*, zit. nach *Wegelin*. 38) *Neumann, H. O.*, *O. Lubarsch u. F. Henke*, Handb. d. spez. path. Anat. u. Histologie, VII/2, S. 534, (1933). 39) *Oberndorfer*, *Ziegler's Beitr.*, Bd. 41, S. 269, (1907). 40) *Oelsner, L.*, Münch. med. Wschr., Nr. 48, S. 2488, (1908). 41) *Ohse*, *Brun's Beitr. z. klin. Chir.*, Bd. 50, S. 667, (1906). 42) *Olsen, A.*, Zbl. f. Gyn., Bd. 57, S. 863, (1933). 43) *Perls*, Archiv. f. Opth., Bd. 19, Abt. 2, S. 287, (1873). 44) *Peters, H.*, Frankf. Z. f. Path., Bd. 13, S. 114, (1913). 45) *Pick, L.*, Berl. kl. Wschr., S. 16, S. 67, (1912). 46) *Piquaud-Dreyfus*, zit. nach *H. H. Schmid*. 47) *Rapp, L.*, *Brun's Beitr. z. kl. Chir.*, Bd. 87, S. 576, (1913). 48) *Ribbert, Hugo*, Geschwulstlehre, S. 436, (1914). 49) *Risel*, Verhandl. d. deutschen path. Ges., Bd. 13, S. 341, (1909). 50) *Sato*, Arch. kl. Chir., Bd. 97, S. 177, (1912). 51) *Schmidt, M. B.*, *Virchow's Arch.*, Bd. 155, S. 557, (1899). 52) *Schmincke*, *Ziegler's Beitr.*, Bd. 47, S. 354, (1910). 53) *Schmid, H. H.*, Arch. f. Gyn., Bd. 118, S. 490, (1923). 54) *Sippel*, Zbl. f. Gyn., Bd. 47, S. 840, (1923). 55) *Soyka*, zit. nach *Borst, Brossok, Braun, Rapp*. 56) *Stoeckel, W.*, Zbl. f. Gyn., Bd. 47, S. 33, (1923). 57) *Strasser*, zit. nach *Wegelin*. 58) *Wegelin*, *Ziegler's Beitr.*, Bd. 46, S. 403, (1909). 59) *Weichselbaum, A.*, *Virchow's Arch.*, Bd. 85, S. 554, (1881). 60) *Williamson*, Brit. med. Journ., Bd. II, S. 10, (1899). 61) *Woods*, Prager med. Wschr., Bd. 31, S. 646, (1906).

Auszug**Über einen Fall von retroperitonealem Ganglioneurom**

Von

Chisato Yamada

(Aus der Frauenklinik der Kaiserlichen Tōhoku-Universität zu Sendai, Japan.

(Vorstand: Prof. Dr. T. Shinoda.)

(Mit TAFELN XXII-XXIII)

(Eingegangen am 14. Feb. 1941)

Das zuerst von *Odier* (1803) beschriebene Neurom lässt sich in zwei Typen unterscheiden, echtes Neurom oder Ganglioneurom, und falsches Neurom oder Neorofibrom. Seit *Loretz* (1870), dem die erste Veröffentlichung über Ganglioneurom zu verdanken ist, sind bis heute schon 53 Fälle berichtet worden. Hier sei ein Fall von Ganglioneurom erwähnt, welches Verfasser neulich unter die Hände gekommen ist.

Es handelt sich um ein 14 Jahre und 1 Monat altes Schulmädchen. Erste Regel im 13,8. Lj. Ein gänseigrosser derber Tumor, den ihre Eltern schon im 2. Lebensjahre an der Unterbauchgegend bemerkten, hat sich ohne Beschwerden mehr und mehr vergrössert. Sie besuchte unsere Klinik mit keinerlei Klage, abgesehen von der Vergrösserung des Tumors (9. XII. 1938). Bei der inneren Untersuchung ergab sich, dass der Tumor derb und zum Teil fluktuiert war. Keine Motilitäts- und Sensibilitätsstörungen an den Unterextremitäten. Patientin wurde unter Diagnose links-seitiger Dermoidcyste operiert.

Beim Öffnen der Bauchhöhle erwiesen sich innere Genitalien als intakt, zudem ein Corpus luteum am rechten Ovarium. Der Tumor lag rechts retroperitoneal und befand sich mit den Nachbarorganen in stärksten Verwachsungen, und die Gefäße sammelten sich am oberen Teil des Tumors, besonders an der Wirbelseite. Art. spermatica dextra, welche stiftdick und dicht über dem Tumor lief, konnte von diesem vollkommen abgelöst werden. Nach der Operation wurde das Allgemeinbefinden zusehends schlechter, am Tage darauf traten mässiges Ödem und aktive Motilitätsstörungen an der rechten Unterextremität auf und die Patientin endete 18 Stunden nach der Operation letal.

Der Tumor wog 1400 g, die Oberfläche groknollig ohne besonders ge-

bildete Kapsel; er schloss in sich eine mit morscher Masse und dunkelbräunlicher Flüssigkeit gefüllte, gänseeigrosse Zyste ein (Fig. 1). Wenn man von der Zyste und deren Umgebung absieht, erweckten elastisch derbe Konsistenz und grau weissliche solide Schnittflächen den Eindruck eines Fibroms.

Histologische Untersuchung. Die weichen Wandpartien der erwähnten Zyste zeigen dichte Anhäufung von kleinen kurzspindligen oder elliptischen Zellen, welche sich um die Blutgefäße oft peritheliomartig anordnen. Verschieden breite Nekrosen in solchen kleinzelligen Gruppen. Der derbe solide Hauptteil des Tumors besteht vorwiegend aus verschieden dicken Nervenbündeln, welche hauptsächlich aus marklosen Fasern mit nur ganz spärlichen markhaltigen zusammengesetzt sind, die nach verschiedenen Richtungen verlaufen, sich vielfach schlängeln und auch regellos durchflechten. Solche Bündel sind zumeist durch ganz spärliche Bindegewebsfasern ganz locker zusammengefügt. Wo sich die Nervenfasern aus den Bündeln etwas weit auseinander ausbreiten oder in den etwas grösseren und locker zusammengefügten Bündeln, da treten nun kleine aber einwandfreie Ganglionzellen mässig dicht gruppiert oder ganz zerstreut auf. Sie sind fast immer ein- sehr selten zweikernig. Im allgemeinen sind Zelleiber und Kerne alle undeutlich, und Kernkörperchen liegen zumeist peripherwärts. Die Karyomitose unsichtbar. Zuweilen sieht man die körnige Degeneration oder hyalintropfige Mischung des Protoplasmas von Ganglionzellen. Manchmal treten schwachbräunliche Granula in den Ganglionzellen zutage, die als eine Art Pigmentdegeneration oder Granula des Zerfallsprodukts aufgefasst werden. Zuweilen kommen zwischen den Nervenfaserbündeln spärliche Lymphozyten, Plasmazellen und mehrere kleine stark tingierte Zellen vor; letztere sind als sehr junge Bindegewebszellen zu betrachten. Die Gefäße verteilen sich mässig weit auseinander, ihre Wand besonders die der Arterien sehr dick, so dass das Lumen oft verengt oder wie geschlossen erscheint. Um die Blutgefäße, in den Gewebsspalten sogar auch in den Lymphbahnen kommen kleine intensiv gefärbte runde, wohl mit Lymphozyten vergleichbare Zellen dicht gruppiert vor. Diese Gruppen sind ganz verschieden gross und zerstreuen sich unregelmässig in verschiedenen Stellen. Diese Zellgruppen lassen sich wohl mit dem sog. „lymphoiden Gewebe“ vergleichen, welches in verschiedenen embryonalen Tumoren oder bei verschiedenen pathologischen Zuständen von den Autoren beschrieben ist. Bei vorliegendem Fall kann man allmähliche Übergänge dieser lymphoiden Zellen zu den peritheliomatösen

Zellen feststellen. Bei genauer Besichtigung ergibt sich, dass die genannten beiden Arten Zellen morphologisch als Sympathogonien angesehen werden dürfen (Fig. 5 und 6).

In den Nekrosenherden um den erweichten Teil sind verkalkte und nekrotisierte Kapillaren vorhanden. Um verkalkte Gebilde werden oft mehrkernige Elemente im Bilde der Fremdkörperriesenzellen gefunden. Auch im Metastasenherd des Perithelioms findet man eine intensiv gefärbte dystrophische Kalkablagerung der Kapillaren. Der grösste Teil der linsengrossen regionären Lymphdrüsen ist peritheliomatös verändert (Fig. 7). In einer Vene in der Nähe einer solchen Lymphdrüse befindet sich eine dichte Tumorzellengruppe, welche aus dem Haupttumor oder viel wahrscheinlicher von der Lymphdrüsenmetastase her verschleppt war (Fig. 8).

Aus Erwähntem geht hervor, dass es sich bei vorliegendem Tumor um ein echtes Ganglioneurom handelt, und dass er den Ausgang in einer embryonalen abnormen Anlage im oder am Grenzstrang des Sympathicus genommen hat. Diese übermässige Keimanlage hat sich zum grossen Teil wie in üblichen Fällen zum Ganglioneurom entwickelt, während sich ein kleiner Teil der embryonalen Zellelemente der Anlage nicht weiter ausdifferenzierte sondern als solche, also als Sympathogonien in etwas bösartiger Weise ziemlich üppig vermehrt hat, was einerseits zur Bildung des peritheliomatösen Geschwulstgewebes sogar zur Metastasierung derselben, andererseits zur Entstehung des „lymphoiden Gewebes“ geführt hat.

Aus den bisher berichteten 53 Ganglioneuromfällen kann folgendermassen geschlossen werden.

Alter und Geschlecht: Aus Tab. 1 und 2 ergibt sich, dass das Ganglioneurom besonders bei weiblichen Individuen schon im jungen Alter zur Beobachtung kommt.

Diagnose: Keine sichere klinische Diagnose, aber nur als retroperitonealer Tumor möglich. In 40% aller Fälle lässt sich der Tumor erst bei der Obduktion feststellen (Tab. 3). Kombination mit Schwangerschaft nur 5 Fälle (*Beneke, Breitung, Law, Sippel, Olsen*).

Lokalisation: Am häufigsten an der Vorderwand des Kreuzbeins, demnächst unter der Niere (retroperitoneal) und auch noch an oder in der Umgebung der Nebenniere (Tab. 4).

Prädilektionsseite: Sie liegt in der linken Körperhälfte (Tab. 5), was darauf hinweist, dass der Tumor mit Missbildungen in engem embryologischem Zusammenhang steht, weil sich die linke Seite als Prädilektions-

Tab. 1.
Alter

Lebensjahre	Fälle
1—5	7
6—10	5
11—15	5
16—20	12
21—25	5
26—30	1
31—35	5
36—40	4
41—50	1
über 51	4
Keine Angabe	4

Tab. 2.
Beim Weib
(unter 31 sicheren Fällen)

Lebensjahre	Fälle
1—10	5
11—20	15
21—30	5
31—40	4
41—50	0
über 51	2

Tab. 3.

Operation	Obduktion	21
	Heilung	16
	Tod	5
	Unklar	4
	Unklar	7

Tab. 4.

Lokalisation	Fälle
Vorderwand d. Kreuzbeins	12
Unter d. Niere	11
Nebenniere od. ihre Umgebung	10
Halsseite	4
In Brusthöhle (retroperitoneal)	3
Mesenterium	1
Dura mater	1
Nasenflügel	1
Kniegelenk	1
Grosshirn	1
Ganglion Gasseri	2
N. opticus	1
Cerebrospinale Nerven	1
Verschiedene Nerven	1
Subkutan	2

Tab. 5.

Entwicklungsseite	Fälle
L. Körperhälfte	28
R. Körperhälfte	11
Auf den ganzen Körper	4
Beiderseits	3
Keine Angabe	7

stelle bei Missbildungen meistens darstellt.

Der Tumor ist im allgemeinen solitär und gutartig, verläuft nur sehr selten bösartig.

Ich bin Herrn Prof. Dr. O. Kimura vom Pathologischen Institut hiesiger Universität für die histologische Untersuchung zum grossen Dank verpflichtet.

人工色素の抗発癌性に就て (肝癌発生の抑制物質に関する研究)

橋 田 雅 人

(京都帝國大學醫學部病理學教室)

(圖版 XXIV-XXV)

(昭和 16 年 2 月 22 日受付)

緒 言

實驗的癌腫發生に際して發癌剤によつて如何なる變化が細胞に與へられるか、といふ問題は、僅かに形態學的に把握せられてゐるのみである。其の癌前驅期の重要な細胞新陳代謝に關しては、未だ殆んど手懸りとなる研究が行はれてゐない。尤も既に癌化せる組織に就ては、古くは Warburg の検壓法に據る研究、新しくは Kögl の d-Protein に関する學說がある。然しこれども、其の特徴ある病態を招來する迄に如何なる新陳代謝系が、第一次變調を呈するかといふことに就ては詳かにするところでない。Kögl が持續的 Kathepsin 起動なるものをこれに擬してゐることは、其の一臆測たるに過ぎない。勿論検壓法によつても、この發癌前期の新陳代謝を握るに至つてゐない。而も既發癌組織に向つて多くの發癌剤(*o*-Amidoazotoluol, Benzpyren u. a.) が反つて腫瘍發育の抑制的に作用するといふ事實は、腫瘍發生過程に於ける組織の新陳代謝が如何に多相なるかを惟はしむるものがある。然し乍ら、吾人が發癌剤の使用實驗に於て、最も興味を以て窺はんとするところのものは、細胞の變性乃至は代償性肥大といふ形態學的には非特異なる狀態が、新陳代謝的に觀て癌性變化を豫約する如何なる變化を含むかといふ點にある。

曩に、天野が「生物哲學に於ける癌腫概念の把握」なる論文に述べた如く、「生體内の腫瘍形成を全體的立場よりすれば、發癌性物質は 1 個の Auslösungsmoment(發生機制學に於ける卵細胞の分化發條要素)たるに止まつてゐることである。而して Roux の稱する Determinationsfaktor(決定要素)は、癌腫發生時に於ても、Auslösungsmoment より離れて依然として後退せる要因として想定せられねばならない」譯であつて、癌腫發生に於ける決定因子は内在的なものであらう。内在的な決定因子を Driesch の云ふ如き Entelechie を以て説明せんとすれば、理の歸結として吾々は到底これを分析し得ずといふ事にもなる。

然し、この胎生學的世界に於ても、最近 Ries の如きは卵細胞の表面に於ける種々の場に關する組織化學的検索によつて、卵の表面に豫約せられた分化の祕密を或る程度まで把えんと試みてゐる。腫瘍發生の前階段期に於ても同様の試みが行はれる可きであらう。

問題は甚だ利用的色彩を帶ぶるとは云へ、發癌物質の癌腫發生過程中に作用して、これを防ぐ

する物質即ち抗発癌性物質の検索こそは、この「腫瘍発生の前階段期」なる錠に對する、鍵の検索に該當するものである。茲に注意すべきことは在來の實驗的癌腫の化學療法なるものが、既に癌化せる組織に向つて治療的に作用する機轉、即ち抗腫瘍性 Karcinolyse kraft の様式に向けられたるに對して、今、余の云ふところの抗発癌性とは発癌剤を作用せしめつゝある組織の癌発生前階段期に於て十分の防癌作用を呈するといふことである。從つて此抗腫瘍性と抗発癌性との間には、癌腫の発生機轉を追究する上に甚だしく相違するものがあるものである。

擇て、斯の如き抗発癌性物質に就ては、肝癌発生剤の發見に次で余等教室同人は「腫瘍発生に於ける全身的素因乃至一般素因」の研究なる題目の下に屢々報するところがあつた。富田 (Cholesterin 及び Leitithin の影響に關する再吟味實驗)、山下(甲状腺製劑乃至副腎製劑 Interenin, 墨汁塞封の影響に關する實驗)の如きもそれであるが、安藤に到りて更に主食としての白米、玄米、小麦の肝癌發生に際する影響を檢すると同時に、酵母及び小麦内含有物質の肝癌發生抑制作用の發見となつた。他方これに次で中原等の酵母、或は牛肝の顯著なる肝癌發生抑制實驗。又、木下等の米糠による抑制作用の實驗が顯れてゐる。些か方面を異にするが、吾々同人伊東は去勢によつて著しく発癌性を促進せしめられる動物に對して Prolan を與へることによつて全く非去勢動物と同様の程度に止まらしむることに成功し、内分泌、殊に高次性ホルモンの作用が肝癌發生時に於ても著しき影響を齎すことを證明した。是等の研究は多くは抗発癌性物質を癌腫發生の前階段期に作用せしめることによつて、夫々其の目的を果したものといふことが出来るが若し発癌剤の化學的組成が簡単なると同様、抗発癌剤の化學構造も亦、これ簡単なりとすれば、前述の錠、及び鍵の構造の簡略化、延いては発癌機構を簡単に模式化し得る意味に於て、甚だ好都合であると云はねばならない。

かゝる意味に於て、吾々同人伊東が o-Amidoazotoluol の肝癌發生に際して Methylenblau の抑制作用を檢せると併せて、Methylenblau の化學構造或は物理化學的性狀に類似する色素を選んで、其抗発癌性を追究することとした。然し、併ひ是等の色素については、多年吾教室の生體染色研究によつて取扱ひの便宜もあるので、其の抗発癌性機構に就ては今後究明の希望がある。

本報に於て述ぶるものは、Thiazin 族 (Thionin, Toluidinblau) 及び Oxazin 族 (Nilblausulfat) の色素 3 種に關するものである。而し、其の中 Nilblausulfat に於てやゝ目的に適つた成績、即ち抗発癌性を認め得たので茲に先づ報告する次第である。

實驗材料及び方法

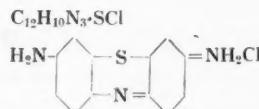
實驗材料

1. 實驗動物： 雌雄を混じたる體重凡そ 80 g のラッテであつて、豫め玄米を以つて飼養し、實驗に耐え得る元氣激渾たるもののみを選定した。實驗開始には 240 匹を用

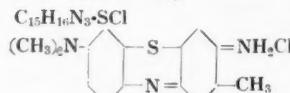
ひた。

2. 飼料： 烏米とも稱する玄米を主食物とし、これに水を毎日更新し、尙、3日に1回宛新鮮な野菜を割えた。
3. 発癌剤： o-Amidoazotoluol のオレフ油溶液を供用した。
4. 抗発癌剤としての供試色素： 以下3種類であつて、共に Grüber & Co のものを使用した。

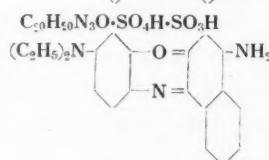
1. Thionin (Thiazin 色素族)



2. Toluidinblau (,)



3. Nilblausulfat (Oxazin 色素族)



實驗方法

a. 實驗開始第1ヶ月間： 240匹のラットを4群に分けて、対照群、Thionin 添加群、Toluidinblau 添加群、及び Nilblausulfat 添加群とした。各群共に先づ、一様に発癌剤を與へた。o-Amidoazotoluol の供用方法は、佐々木、吉田の肝癌発生實驗に使用せる方法に倣つて、o-Amidoazotoluol 25g を日本藥局法オレフ油 500g に溶解したもの 20g を三つて、玄米 980g に混和した。1日1ラットの食餌量として 5g 乃至 10g の玄米を與へた。そして此所でも更に長期實驗に耐え得られる健壯なもののみを選定する事につきめた。一つには供試色素を節約する意味もあつたが、第1ヶ月にはこれを使用してゐない。

b. 實驗開始第2ヶ月以後第12ヶ月末迄対照群に對しては前期同様の方法で発癌剤の飼與を繼續した。供試色素群に對しては、伊東と同様夫々色素溶液を玄米に塗布し後乾燥せしめ、更に対照群と同一濃度の o-Amidoazotoluol オレフ油溶液を塗布したものと與へた。此場合供試色素量は、玄米中に含まれてゐる o-Amidoazotoluol の量と同一にしてある。此等各群の個々のラットについて、毎1ヶ月體重測定と血液像検査をなした。かくして 365 日生存したものの中から、任意に其の5匹宛について、體

重測定、血液像検査(血色素量、赤血球数、白血球数及び其分類)をなして、これを撲殺し、臓器の重量測定、脾臓の塗抹標本、内臓の組織學的検索をなした。

c. 満1ヶ年以後：満1ヶ年を経過して、尚生存したものは、供試色素群のみであつて、此等は o-Amidoazotoluol の投與を中止して、供試色素の玄米添加のみを依然繼續してゐる。

實驗成績

發育狀態

實驗開始後第1ヶ月間に於て o-Amidoazotoluol 添加のみにて飼養中、全數の略々 6割動物の斃死を見たので、次の供試色素添加開始の時期には、対照群 20 匹、Thionin 添加群 23 匹、Toluidinblau 添加群 26 匹及び Nilblausulfat 添加群 23 匹生存してゐた。

365 日の時期まで生存し得たものは対照群 5 匹(♀ 5)で 25%，Thionin 添加群 6 匹(♂ 4, ♀ 2)で 27%，Toluidinblau 添加群 9 匹(♂ 5, ♀ 4)で 39%，Nilblausulfat 添加群 11 匹(♂ 1, ♀ 10)で 48% であつた。體重表に見る如く、Nilblausulfat 添加群は體重は左程重くはないが、一般に毛並よく、澄潤として健康らしく見受けられ、且斃死數も少なかつた。實驗開始後 4, 5 ヶ月の頃に體重の著しく低減したのは、同時に皮膚炎を發病したのと關係あるものと思ふ(第1表参照)。

365 日飼養實驗動物の肝臓所見

實驗開始後 365 日の時期に於てはラッテの o-Amidoazotoluol 及び供試色素の攝取量はラッテの玄米攝取量に比例する譯であるが、ラッテ中には玄米の外層を食べ残す習性のものが混在してゐたから、一様に替算する事は無理である。o-Amidoazotoluol は 1.83 g 乃至 3.65 g、供試色素は 1.68 g 乃至 3.35 g と見做される。

肝臓所見： 対照群は全例(Nr. 9, 8, 17, 18, 19)に於て発癌し、同時に腺腫(Nr. 8)及び結節性肥大(Nr. 9)を作ふものが夫々 1 例ある。其の内の 1 例(Nr. 8)は骨髓性化生竈を認めた。

Thionin 添加群に於ては発癌せるもの 2 例(Nr. 65, 67)、腺腫の移行型のもの(Nr. 61) 1 例、結節性肥大を認めたもの(Nr. 54, 57) 2 例あつた。尚、発癌せるものの 1 例中(Nr. 65)に骨髓性化生竈を認めた。

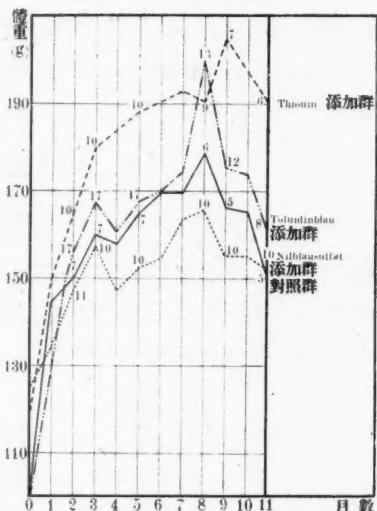
Toluidinblau 添加群に於ては、発癌せるもの 2 例(Nr. 30, 45)、腺腫の移行型を示すものが 1 例(Nr. 27)、腺腫に結節性肥大を示すものが 1 例(Nr. 24)あつた。此處

でも発癌せる1例(Nr. 45)に骨髓性化生竈を認めた。

Nilblausulfat 添加群に於ては、発癌せるものは僅に1例(Nr. 79)であつた。此の肝臓には同時に腺腫及び結節性肥大を認める部分があつた。結節性肥大を認めるもの1例(Nr. 87), 何等變化を認めないもの3例(Nr. 85, 86, 95)あつた。然し其の内1例(Nr. 85)は寄生蟲(*Cysticercus fasciolaris*)の囊胞壁より發生せりと覺しき肉腫が附隨してゐた(第2表参照)。

要之、附圖寫真に於ても認め得られる如き肝癌が、對照群の全例に發生せるに對し、供試色素添加群に於ては肝癌は勿論、腺腫或は、結節性肥大すらこれを呈せざる例があつた譯である。而も後者中最も肝臓變化の輕度なるものは Nilblausulfat 群であるが、これには1例の肝癌例と1例の結節性肥大例を認めたが、残る3例には全く肝實質の變化を認め得ない。尤もこの肝實質の變化なしと稱する3例中の1例に於ては *Cysticercus fasciolaris* 寄生囊胞の壁から、紡錘形細胞肉腫の發生せるを認めたが、これを o-Amidoazotoluol と寄生蟲との協力と解するか、或は單に寄生蟲のみに負ふところとするか、其の解釋の如何に拘らず、兎も角、肝實質細胞に於て何等病變を認めないといふ點に據つて觀れば、肝癌の發生作用が抑制せられてゐるゝ解し得られよう。從つて供試色素の添加によつて、Thionin には極輕度の、又 Toluidinblau には中等度の、又 Nilblausulfat には相當高度の(o-Amidoazotoluol 発癌作用に拮抗して、これを抑制せんとする)抗発癌性作用があるゝ思考せしめるものがある。更に同様の關係に就ては、飼養実験の途中斃死せるもの、或は後述の365日以上の生存動物の剖検所見よりしても、これを支持し得られるものがある。

第1表 體重曲線

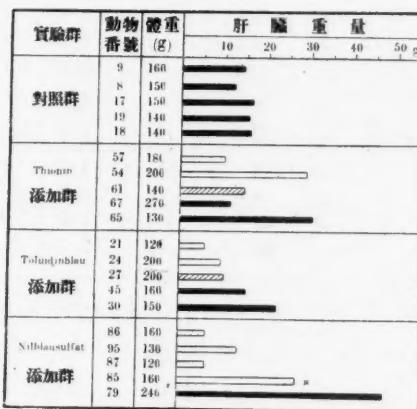


曲線上的数字は體重測定當時生存「ラッテ」數を示す

365日飼養実験動物の一般内臓所見

肝臓に就ては以上の如くであるが、これに附隨して、全身の臓器重量を参考として

第2表



■ 肝癌を発生したラットの肝臓
 ■ 肝癌と腫瘍の移行型像を呈するラットの肝臓
 □ 肝癌の発生を見たラットの肝臓
 × 肉腫を発生したラットの肝臓

掲げるこざさする。これは他日、豫防的意義を帯びる抗発癌色素が決定せられる場合に、該色素の全身臟器に及ぼす作用を検討する際に役立つものと考へられる(第3表参照)。

飼養 365 日前或は後に発生せる実験動物の肝臓所見

前項に於て3種の供試色素中、Nilblausulfatに於て相當高度の抗発癌性が認めら

第3表 全身臓器重量表

実験群	動物番号	性	體重(g)	肝重(g)	肝重×100 體重	脾重(g)	腎重片側 (g)	睪丸重 (g)
対照群	9	♀	160	14	9.3	1	1	
	8	♀	150	12	8.9	1.2	0.7	
	17	♀	150	16.5	11	0.5	0.5	
	19	♀	140	16	11.4	0.8	1	
	18	♀	140	16.5	11.1	1	0.8	
添加群	57	♀	180	10	5.5	0.7	0.8	
	54	♂	200	29.5	14.3	2.1	1	2.1
	61	♀	140	15	17	1.4	0.8	
	67	♂	270	11.7	4.3	1.9	1.5	1.9
	65	♂	130	31	23.8	4	1	0.5

添 加 群 Toluidinblau	21	♀	120	5.5	4.5	0.6	0.5	
	24	♂	200	9.5	4.8	1.6	1.1	0.9
	27	♀	200	10.5	5.2	1.3	1	
	45	♂	160	16.5	10.3	1.6	1.2	0.7
	30	♂	150	23.5	15	1.3	0.7	0.7
添 加 群 Nilblausulfat	86	♀	160	6.5	4	0.8	0.7	
	95	♀	130	14	10.8	1.4	1.1	
	87	♀	120	6.5	5.4	0.8	0.8	
	85	♀	160	27	16.3	1.6	0.9	
	79	♂	240	47	19.5	2.5	1.2	1.7

れるこを述べたが、飼養日数 365 日に達せざる以前の時期に斃死せる動物、或は 365 日以後まで生存した動物に就ても同様の関係が認め得られるであらうか。本項では其の然るこを、若干の事實を擧げて示さうと思ふ。

365 日に達せざる以前に斃死した動物の數は第 4 表に掲げた通りである。この表では 31~209 日、210~364 日、365 日、366~410 日の各期に分つてゐるが、最初の 1 ヶ月は発癌剤のみを與へ、第 2 ヶ月より供試色素を添加せる爲めに 1~30 日間の分は示してゐない。授て 7 ヶ月を経れば漸く肝癌を生ずるものに遭遇するのであるが、此頃より屠殺期 365 日迄の間に各群の動物は總數 14 匹死亡し、且、其中肝癌を認めたものが 4 例ある。肝癌は対照を含む各群に 1 乃至 2 例宛生じてゐるが、茲に注目すべきこことは Nilblausulfat 群に於てのみは斃死動物は 1 例もなく、從つて又癌化も無い。365 日目に各群の 5 匹宛を屠殺した成績は既述の如くであり、重ねて云ふ必要はないであらう。365 日以後に於て 410 日現在迄のところ 4 例の動物が斃死した。尤も対照群は既に 365 日目に全部屠殺し、餘すところ無く癌化してゐたのであるから、365 日以後の発癌能を今更追求する必要はない。授て 4 例とは Thionin 及び Toluidinblau の各群の 1 匹及び Nilblausulfat 群の 2 匹であるが、前 2 者は肝癌を發し、後者の 2 匹には肝癌を發してゐない。但し後者の 1 例には限局して腺腫の帽針頭大の小結節を有してゐたが、同例の一般肝組織は全く正常の像を呈してゐた。

尙、生存する動物は Toluidinblau 群の 3 匹、Nilblausulfat 群の 4 匹である。此等の兩群に於て生存動物が認められるこいふこことは、供試色素の抗発癌性こいふ點から觀て、蓋し當然の現象と考へられる。其の斃死後の詳細は後日報するこゝしたい。何こなれば、可及的長期生存せしめ得た動物中に全く肝癌を生ぜぬものがありこすれば、それによつて完全に抗発癌性を發揮せしめ得た例のあるこゝが主張出来るからである。

以上、本項を要約すれば、依然として、此材料に於ても Nilblausulfat に相當高度の抗発癌性作用の存在することを證明し得たといふことになる。而し、其の性に於てこれに次ぐものは Toluidinblau である。

第4表

実験群	31日～209日 210日～364日				365日(撲殺)			366日～410日			生存数
	斃死数	癌化数	斃死数	癌化数	撲殺数	癌化数	率	斃死数	癌化数	率	
対照群	12	0	3	1	5	5	100				0
Thionin 添加群	13	0	4	1	5	2.5	50	1	1	100	0
Toluidinblau 添加群	9	0	7	2	5	2.5	50	1	1	100	3
Nilblausulfat 添加群	12	0	0	0	5	1+1*	20	2	0		4

* 實質變化のない肝臓肉腫例

實驗動物の肝、脾内造血化生瘤と其血液所見に就て

本實驗に當つて余は特に造血器及び血液像の變化の有無を以て、特に肝臓癌の發生過程動物に就て詳細に觀察することとし、全動物に亘つて毎月1回血液像の検査を試み、又屠殺後病理剖學的血液學的に肝、脾、骨髓の觀察をなした次第であるが終始白血病例には遭遇しなかつた。

吾々の共同研究者富田は o-Amidoazotoluol 飼養實驗中に3例の白血病の原發を認め、伊東も亦1例詳細な觀察を記載してゐる。其の他安藤も亦同様の實驗中に肝臓の癌性變化を呈しつゝある組織の一部に赤血球増生を呈する骨髓性化生瘤を認め、これを記載すると共に充明な寫真を掲げてゐる。是等の事實は、從來から血液疾患の極めて稀なりとせられてゐるラットに於てさへ o-Amidoazotoluol が何等かの造血器の不安狀態を招來するものではないかと惟はせるものがある。

さて、余の場合にも肝臓内に赤血球増生瘤を認めた例が3例(対照群、Toluidinblau 群、Thionin 群各1例)ある。而も注目すべき事には是等の造血瘤は凡て肝癌を発生せる例に限られており、且、肝癌組織内に発癌してゐる。此點に於て從來発癌物質と腫瘍との直接關係を論じた先人の文献とは別個の意味がある所見なりと考へてゐる。即ち此の考へを以てすれば、肝臓の癌化過程中に機能的意味に於ても一定の胎生期的退化狀態が現出し、其の一性格として肝臓内にかく赤血球増生瘤が生ずるものであらう。從つてかくの如き肝所見と關聯して脾臓の所見は如何と云ふに、其3例中の1例(Thionin 群 Nr. 65)に於てのみ脾の高度の骨髓性化生を認めた。此の脾は全面

第5表

実験群	動物番號	血色素 %	赤血球	白血球	白 血 球 百 分				
					N	L	B	E	Mon
対照群	9	77	5200000	17000	75	22	—	—	8
	8×	85	6496000	13800	41	57	—	1	1
	17	81	8936000	8600	60	38	—	—	2
	19	77	7356000	14300	48	50	1	—	1
	18	75	7172000	13200	53	47	—	—	—
Thionin 添加群	57	75	6184000	23400	44	56	—	—	—
	54	67	4072000	11200	65	33	—	—	2
	61	45	3088000	13200	70	23	—	—	2
	67	86	5616000	13200	44	53	—	—	3
	65×	56	4220000	13200	50	49	1	—	—
Toluidinblau 添加群	21	90	7416000	15400	55	40	—	2	3
	24	78	5936000	14600	46	51	—	—	3
	27	82	6112000	9600	36	61	1	—	2
	45×	90	6520000	9800	58	40	—	2	—
	30	70	5360000	13500	52	48	—	—	—
Nilblaussulfat 添加群	86	92	6608000	13200	54	45	—	—	1
	95	106	8010000	12400	71	28	—	—	1
	87	68	5704000	15700	70	29	—	—	1
	85	68	4473000	18300	43	56	—	1	—
	79	48	5224000	15200	56	42	—	—	2

× 肝臓内に赤血球増生竈を認めた例 大字は肝癌を發した例

に骨髓性化生を以て占められ、濾胞の構造は全く失はれてゐる。脾重も4gである。又屠殺時に作成した塗抹標本を觀るに、若干小淋巴球を混へてゐるが大部分は圓形核の少數の顆粒形成途次にある Promyelocyt であり、これに附隨して少數の Myeloblasten, Myelocyt 及び分葉核細胞、更に有核赤血球、骨髓性巨細胞がある。此塗抹標本の所見は組織切片の所見を確證するものである。元來ラットの脾に於ては少量の Myelocyt が恒存し、輕度の變調に應じて骨髓性巨細胞が出現するし、且又其際には淋巴濾胞の萎縮が高度に認められる。丸谷等も、発癌剤其の他の造血器との關係を追求してゐるが、果して其の云ふところの骨髓性化生が何の程度のものであるか詳かにし得ない。乍然、余の此處で述べたところの例では、脾の腫大と共に全脾の骨髓性化生があり、慢性骨髓性白血病脾の所見との相違は、僅に骨髓母細胞數の僅微なる点に於けるが如く血液像の變化を缺如する點にある。

今365日目に屠殺した全例の血液所見を表示するに、第5表の如くであるが、肝の赤血球増生竈ある對照群のNr. 8, Thionin群のNr. 65, Toluidinblau群のNr. 45

の血液像が、爾餘の動物に特に相違するといふことは認め難い。又前述の脾に於て高度の骨髓性化生ある例に於てすら、其の血液像殊に白血球中に幼若細胞の出現することはない。又肝臓内に於て骨髓性白血球系及び骨髓巨核細胞が出現せず、單に赤血球増生のみを呈するといふ事を貧血に對する反應と觀る事は此の一般血液所見が許さない。かく肝が専ら赤血球増生竈を具現し來るに對して、何故に脾に於ては骨髓内要素全般が均等に瀰漫性に出現するかといふ問題、即ち「臟器の反應特殊性」に就ては此場合説明すべき材料が不十分である。

乍然、是等の造血臟器の變化が、發癌剤の投與と關係があり、特に發癌剤にて肝癌を生じた例の部分現象に相當する點は看過すべきではない。最近 Weitz は臨牀的に X 線技術者の慢性白血病發生初期の觀察を記載し、其際脾が原發竈としての態度を示したと述べてゐる。前述の余の脾の高度の化生ある例が富田の實驗證明した、o-Amidoazotoluol 飼養ラットの慢性白血病例の前驅的位置を占むるとするならば、肝と無關係に、脾が骨髓白血病原發竈として其前驅的狀態に在るものと解するところも出來る。而し、其際には肝の赤血球増生竈はこれとは無關係に肝の局所的記憶の逆行現象を物語る一標識と解すべきであらう。

總 括

本研究は正に途に就た許りであつて此後多くの抗發癌性色素の検索と俟つて初めてその目的を達し得るものである。従つて o-Amidoazotoluol なる發癌剤に對して、抗發癌性色素として検した 3 種の供試色素の 1 乃至 2 に於て其陽性所見を認め得たからと云つて、直ちに發癌機轉に觸れ得るが如き推測は許されないであらう。唯今回の實驗に於て余が用ひた供試色素に就て一言するに止めたい。

余の 3 色素は Thiazin 及び Oxazin 色素族であるが、此の兩者は 2 個の Benzol 核を繋ぐに N 及び S、或は N 及び O を以てし、所謂 Thiazin 環及び Oxazin 環をなすものであつて、其の構造は比較的簡単であるが、前者の中には化學療法の立場から、周知の Methylenblau を含み、後者の中にはこれ又生體染色學上周知の多種の色素を含んでゐる。孰れも主として鹽基性色素として、よく水溶性にして、且 Lipoid 可溶性であり、生體乃至超生體組織をよく染めるものである。是等の色素が化學的に生體に作用するに際しては、前述の性状に従つて先づ細胞内に入り（或は細胞外の血液内に於て既に一定の作用を受けて）水素添加によりて還元性白色色素となるものである。而もこの反應は酸化によつて再び顯色するといふ可逆的性質のものなるが故に、組織の新陳代謝に際して一種の觸媒として多くの酵素系に關係を持つて來

るこことは當然である。消化管から吸收せられて後、肝臓に到達した際に肝臓組織に向つて、この觸媒の働きを示すといふこことは極めて容易に想定し得ることである。

o-Amidoazotoluol も亦同様にして肝に作用するであらうが、これが発癌作用を呈する所以に就ては、未だ化學過程或は酵素系の變化を詳にしない。然しかくの如き化學物質が肝細胞に作用するからには、當然酵素系に向つて其作用を呈する筈である。其際 *o-Amidoazotoluol* の肝癌發生作用に對して *Nilblausulfat* が直ちに *Antikatalysator* 乃至 *Antiferment* として拮抗してゆくものか、或は其の間に若干別個の酵素系が介在してゐるものか、これは今後の問題である。前者の如き説明を許す場合を直接作用と見做し、後者の如き場合を間接作用なりと名付ける時は、理想的意味に於ける抗発癌性物質とは、直接作用を呈するものを意味しなければならない。

然し前述の如く、発癌剤は直ちに以て発生機制學に於ける Determinationsfaktor (*Roux*) に匹敵するものは見做し難く、其種類も多種である。又発癌剤を Realisationsfaktor なりと見做すならば、直接作用による抗発癌性物質の一般的利用性は局限せられる譯である。然し勿論其の場合には Realisationsfaktor としての意味を究明するに好都合であらう。又若し多種の Realisationsfaktor に對して有效なる抗発癌性物質を期待するならば、これは當然間接作用を呈するものとなるのであるが、其の作用たるや非特異的であらねばならぬ。

今日吾人の細胞酵素系に對する知識は腫瘍特有のものを發見する迄に到つてゐない。細胞新陳代謝の側から言へば極めて表層の一般的な範圍の現象を把えてゐるに止まつてゐる。從つて今後に於て腫瘍性賦活を營む爲の酵素系が次第に緻密に研究せられるであらうが、これにつれて発癌物質乃至抗発癌物質の作用も追究せられ得べきである。茲に若し極めて一般な組織新陳代謝の觀察方法たる Warburg の検壓法に基いた所見を云ふならば、我教室の林は多くの生體染色陽性乃至陰性色素の組織呼吸に及ぼす影響を觀察したがそれによれば、*Nilblausulfat* には極めて著しい組織呼吸の促進作用があり、他の生體染色色素と趣を異にしてゐる。尤も此の研究には、嫌氣性解糖作用に對する検索が試みられてゐないこことはあるし、これのみを以て、前述の特異なる抗発癌作用を説明するには不十分ではあるが、然し、これも亦一つの手懸りとして今後の研究に當つて考慮して置く必要があるであらう。勿論此點に留意するといふこことは、余の前述の意味に於ける抗発癌性物質の間接作用に屬せしめて解することに外ならない。既に富田、林の *o-Amidoazotoluol* に對する研究及び中谷、中野、小原等の Buttergelb 発癌時の検壓法による研究よりすれば、是等の発癌剤が組織の

呼吸様式に變化を與へるのは、組織學的變化を招來するに從つて明かとなるのであつて、組織學的變化に先立つて、呼吸樣式の變化が把握されてゐるといふ譯ではないようである。かくの如き程度の實驗樣式に基いて、直ちに發癌時の先行新陳代謝變化及びこれに對する抗發癌性の先行新陳代謝を十分説明するといふことは不可能である。然し o-Amidoazotoluol 乃至 Buttergelb 投與時に於ける組織の新陳代謝には一定の測定範圍外の域に於て、所謂「不可測定域の呼吸忍客限度の低下」といふものがあり、前述の Nilblausulfat の如きはこの呼吸の忍客限度の低下を恢復せしめるといふ風な解釋が許されるさすれば、検壓法による觀察所見も亦ある程度まで抗發癌性の意義を解くものがあるといつてよいであらう。然し此れは極めて一部的な解釋法たるに過ぎない。

結論

1. 簡單なる構造の發癌性物質は發見せられたが、この作用を抑制する物質は未だ決して單純とは云ひ難い。余は人工 Anilin 色素中にこの抗發癌性物質を探求した。
2. 抗發癌性物質は單に發癌を抑制するといふ利用的意味のものではなく、發癌性物質の作用機轉を模索する上には必要なる手懸りを與へるものと考へられる。
3. 今回の供試色素は Thiazin 族 2 種 (Thionin, Toluidinblau) と Oxazin 族 1 種 (Nilblausulfat) であつた、余はこれ等を先づ水溶液として玄米に吸著せしめ、その乾燥を俟つて更に o-Amidoazotoluol オレフ油溶液を混じ、供試色素に對して發癌物質を外膜たらしめ、同時に兩者がラッテに攝取せられる様に工夫した。
4. 飼養満 1 ヶ年に各群を 5 匹宛屠殺、肝臟を觀察するに、對照例は全例に於て、Thionin 及び Toluidinblau 群は半數に於て、Nilblausulfat 群は 5 例中の 1 例に肝癌の發生するを認めた。然し Nilblausulfat 群の 1 例には *Cysticercus* 囊胞壁より發生せりと覺しき紡錘形細胞肉腫を認めた。
5. 飼養實驗満 1 年以内に斃死した動物中に於ても特に Nilblausulfat 群のみ發癌例なく、又満 1 年以上飼養した動物に於ても他群と異つて、非癌例 (2 例) を出してをり、是等の事實を案するに、此色素には相當高度の抗發癌性あることを確認した。
6. 尚、365 日屠殺動物の 3 例 (Nilblausulfat 群を除く他の 3 例に各 1 例宛) に肝臟内赤血球の増生化生竈あるを認めたが、是等は總べて肝癌組織内に於けるものであるから注目に値する。又、是の中の 1 例には脾臓が腫大し、慢性白血病様の高度の骨髓性化生を示した。然し孰れの例に於ても血液像には特異なるものはなかつた。
7. 本研究によつて、發癌性物質に對する抗發癌性物質も亦人工色素中に求め得ら

れるさいふこそが明かになつた。尙、抗発癌性物質の作用機構に就て若干の考察を試みた。

本研究に對して癌研究會の補助費を受けたことを記して謝意を表する。天野重安

文 獻

- 1) 天野, 芝蘭. 第 8 號. (昭. 9). 東京醫事新誌. 第 3002, 3003 號. (昭. 11).
- 2) 天野, 富田, 癌. 第 31 卷. 第 2 號 (昭. 12. 4).
- 3) 安藤, 癌. 第 32 卷. 第 3 號 (昭. 13. 6).
- 4) 安藤, 癌. 第 33 卷. 第 3 號 (昭. 14. 6).
- 5) 安藤, 癌. 第 34 卷. 第 6 號 (昭. 15. 12).
- 6) Bullock, F. D. u. Curtis, M. R., Am. J. Cancer research, 14: 1. (1930).
- 7) Cook, J. W. and Kennaway, E. L., Am. J. Cancer Vol. 39: 381, 521. (1940).
- 8) 林, 河瀬, 癌. 第 30 卷. 第 3 號 (昭. 11. 6).
- 9) 林, Z. gesam. exp. Med. 99: 689. (1936).
- 10) 橋田, 京都醫學雜誌. 第 37 卷. 第 7 號 (昭. 15. 3).
- 11) 伊東, 癌. 第 34 卷. 第 1 號 (昭. 15. 2).
- 12) 伊東, 癌. 第 34 卷. 第 5 號 (昭. 15. 10).
- 13) 伊東, 癌. 第 35 卷. 第 2 號 (昭. 16. 6).
- 14) 清野, 天野, Acta schol med. univ. imp. Kioto. XX 19. 1937.
- 15) 木下, 產科婦人科紀要. 第 22 卷. 9 號 (昭. 14. 9).
- 16) 中原, 森, 藤原, 癌. 第 32 卷. 第 5 號 (昭. 13. 10).
- 17) 中原, 藤原, 森, 癌. 第 33 卷. 第 2 號 (昭. 14. 4).
- 18) 中原, 森, 藤原, 癌. 第 33 卷. 第 5 號 (昭. 14. 10).
- 19) 中谷, 中野, 小原, Gann. 32: 240. 1938.
- 20) 森, 中原, 癌. 第 34 卷. 第 2 號 (昭. 15. 4).
- 21) 李, 癌. 第 30 卷. 第 3 號 (昭. 11. 6).
- 22) 李, 京都醫學誌. 第 37 卷. 第 2 號 (昭. 15. 2).
- 23) 佐々木, 吉田, Virchow's Archiv. 1935. Bd. 295. S. 175.
- 24) 富田, 癌. 第 2 報. 第 31 卷. 第 3 號 (昭. 12. 6).
- 25) Weitz, Kl. Wschr. 1938. II. 1579.
- 26) 山下, 癌. 第 32 卷. 第 3 號 (昭. 13. 6).
- 山下, 癌. 第 33 卷. 第 3 號 (昭. 14. 6).

Auszug

Über die Antikanzerogenität von künstlichen Anilinfarbstoffen bei der experimentellen Hepatomerzeugung. I. Mitt.

Von

Masato Hashida

(Pathologisches Institut der Kaiserlichen Universität Kyoto.)

(Mit TAFELN XXIV-XXV)

(Eingegangen am 22. Feb. 1941)

Als antikanzerogene Substanzen möchten wir hier die künstlichen Anilinfarbstoffe mit bekannter chemischer Struktur in Vorschlag bringen, und zwar haben wir selbst Versuche mit antikanzerogenen Farbstoffen, in Analogie zur Erforschung der kanzerogenen Substanzen unternommen.

Unser Mitarbeiter *Ito* hat seine mittels Methylenblau erhaltenen Resultate bei seinen mit gleicher Absicht unternommenen Experimenten berichtet, wobei aber die Methylenblauapplikation eine etwas andere als bei uns war. Wir benutzten zwei Farbstoffe der Thiazin-Gruppe (Thionin und Toluidinblau) und einen Farbstoff der Oxazin-Gruppe (Nilblausulfat). Unser Resultat fiel beinahe wie erwartet aus, worüber wir hier berichten möchten.

240 Ratten wurden einen Monat lang mit o-Amidoazotoluol-Olivenöl-Rohreis-Gemisch gefüttert, dann fügte man seit dem Beginn des zweiten Monats die obengenannten Farbstoffe der Nahrung bei, d. h. die Reiskörner wurden zunächst mit einer wässrigen Lösung des betreffenden Farbstoffs gemischt und dann nach dem Trocknen mit einer Olivenöllösung von o-Amidoazotoluol verrührt. Auf diese Weise wird den Ratten gleichzeitig der antikanzerogene sowie kanzerogene Farbstoff appliziert. Nach 1 Jahr wurden je 5 Ratten von den vier einzelnen Gruppen getötet und makroskopisch sowie mikroskopisch untersucht. Die Kontrollen betreffend, wurde bei allen Ratten und bei der Thioninsowie Toluidinblau-Gruppe in der Hälfte der Fälle das Hepatom beobachtet. (Die Fälle, bei denen man einen Übergang zwischen Adenom und Hepatom beobachtete, wurden unter Krebs als 0.5 in die Tabelle eingetragen.) Bei der Nilblausulfat-Gruppe wurden nur ein Fall von Hepatom und außerdem noch ein Fall von Spindelzellsarkom, begleitet von Cysticercus-Cyste gefunden. Im allgemeinen wurde eine Veränderung der Leber bei dieser Gruppe äußerst selten beobachtet.

Einen ähnlichen Befund konstatierte man bei den Tieren die vor 1 Jahr gestorben sind, wobei kein Fall von Hepatom in der Nilblausulfat-Gruppe, wohl aber einige Hepatomfälle in den anderen drei Gruppen beobachtet wurden (s. Tab. 1.).

Tabelle 1. Gesamtresultat

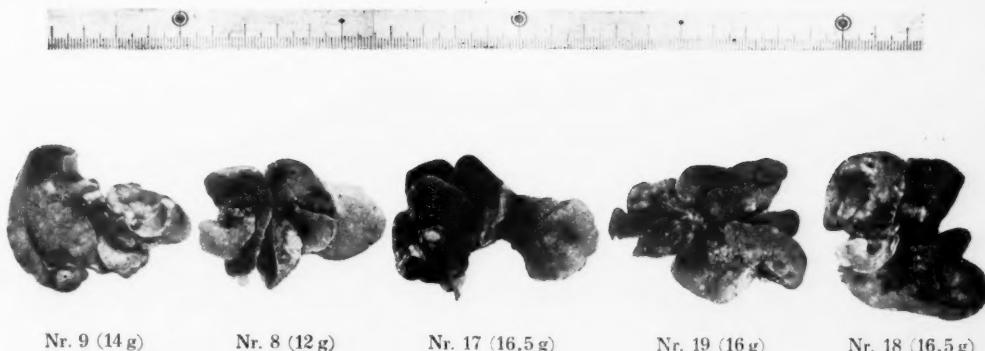
Verlauf Gruppe	31—209 Tage		210—364 Tage		365 Tage (getötet)			366—410 Tage			Weiter lebend	
	Todes- zahl	Krebs	Todes- zahl	Krebs	getötet. Zahl	Krebs	%	Todes- zahl	Krebs	%		
Kontroll-Gr.	12	0	3	1	5	5	100				0	
Thionin-Gr.	13	0	4	1	5	2.5	50	1	1	100	0	
Toluidinblau-Gr.	9	0	7	2	5	2.5	50	1	1	100	3	
Nilblausulfat-Gr.	12	0	0	0	5	1+1*	20	2	0	0	4	

* Fall von Lebersarkom ohne Parenchymveränderung.

Bei den Ratten, die über 1 Jahre lebten, hörte man mit der Beifügung von o-Amidoazotoluol auf und gab ihnen nur Reis, gemischt mit Farbstoff. Der bei diesen Tieren (gestorben oder noch 366-410 Tage lebend) nachgewiesene Befund findet sich ebenfalls in Tabelle 1 wiedergegeben, und zwar ergab sich als Resultat: 1 Fall in der Thionin-Gruppe und 1 Fall in der Toluidinblau-Gruppe mit Hepatomerzeugung; 2 Fälle in der Nilblausulfat-Gruppe ohne Hepatom und ohne knotige Hyperplasie! 3 Tiere der Toluidinblau-Gruppe und 4 der Nilblausulfat-Gruppe waren über 410 Tage noch am Leben. Wie die obigen Resultate bei den Tieren in 1 Jahr oder vor und nach 1 Jahr der Fütterung erkennen lassen, ist die Antikanzerogenität bei Nilblausulfat bei weitem intensiver als bei den anderen Farbstoffen. Was den Entwicklungsgrad der Ratten der einzelnen Gruppen anbetrifft, so ist die Gewichtszunahme in der Nilblausulfat-Gruppe ziemlich gering, doch ist die Mortalität im Spätstadium der Fütterung nicht gross; auch sind die einzelnen Tiere sehr lebhaft und zeigen immer guten Haarwuchs.

Auf Grund des obigen Experimentes, darf man wohl behaupten, das es Farbstoffe gibt, die antikanzerogene Eigenschaften besitzen, analog den schon bekannten Farbstoffen mit kanzerogenen Eigenschaften.

Kontroll-Gr.



Thionin-Gr.



Toluidinblau-Gr.



Nilblaussulfat-Gr.



Abb. 1. Übersichtliche Abbildung der untersuchten Leber.

Masato Hasida: Über die Antikanzerogenität von künstlichen Anilinfarbstoffen bei der experimentellen Hepatomerzeugung. I. Mitt.

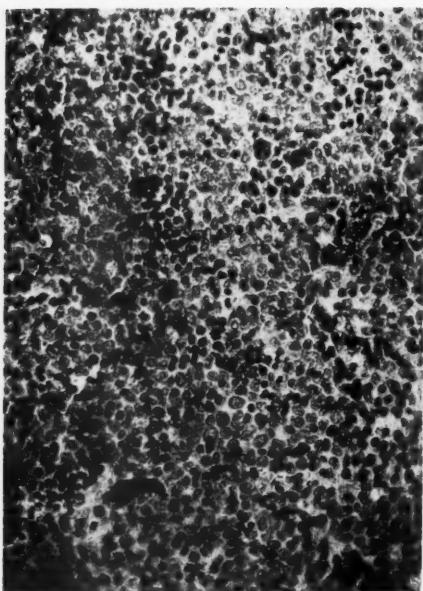


Abb. 2. Myeloidmetaplasie der Milz
(Thionin-Gr. Nr. 65).



Abb. 3. Myeloidmetaplasie der Milz. Ausstrich.
Myeloblasten, Promyelocyten, Myelocyten u.
Erythroblasten (Thionin-Gr. Nr. 65).

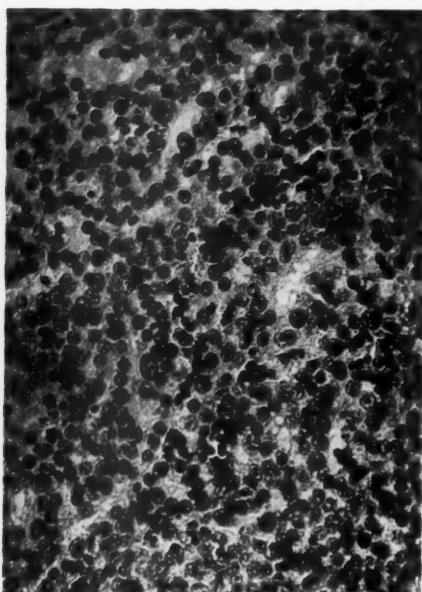


Abb. 4. Erythropoese in dem Hepatomgewebe
(Thionin-Gr. Nr. 65).



Abb. 5. Cysticercus-Sarkom der Leber
(Nilblausulfat-Gr. Nr. 85).

Masato Hasida: Über die Antikancerogenität von künstlichen Anilinfarbstoffen bei der experimentellen Hepatomerzeugung. I. Mitt.

Methylenblau の肝癌發生抑制作用に就て（第2報）

伊 東 祐 晴

（京都府綾部町郡は病院研究室 指導 天野重安）

（圖版 XXVI-XXVIII）

（昭和 16 年 3 月 22 日受付）

緒 論

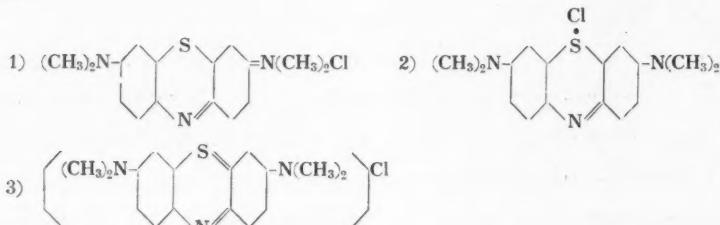
曩に著者は、「腫瘍發生と内分泌物に關する實驗的研究」なる論文⁽⁸⁾の緒論に於て、簡単に本研究の著想に就て論述せり。即ち未だ所謂癌腫年齢に達せざる 30 歳の一婦人が、去勢を受け且 Methylenblau 及び Neotropin の服用をなしつゝある中に肝臓癌を發したる自家經驗に就て、肝癌發生要約を逐次分析的に實驗追究せんことを企圖し、偶々我國にて發見せられたる有力なる發癌剤 o-Amidoazotoluol の肝癌發生時に際して、是等の要約が如何なる影響を齎すものなりやを検せんこせり。而して昭和 13 年其の第 1 實驗に著手し、先づ雌性ラッテが去勢により、肝癌發生が著しく促進急速化せしめられるこを明にし、且此際若し Prolan (Bayer) の持続注射をなす時は、去勢による促進性(之を卵巣缺落症状と見るに拘らず)が全く除去せしめ得らるゝこを發見せり。

而して、本論は第 2 段階の實驗として、o-Amidoazotoluol 肝癌發生に際して、持続的 Methylenblau 投與が如何なる結果を齎すものなりやを明にせんこ欲す。蓋し、o-Amidoazotoluol の肝癌發生に對する Methylenblau の影響に就ては余の既報「ラッテに於ける白血病の發生に就て」中に極めて簡単に豫報せり。即ち發癌剤投與期間を 250 日となし、其の後これに換へて若し Methylenblau 投與飼養をなす時は、Methylenblau を用ひずして單に平常食を以て飼育せる動物よりも著しく發癌抑制せらるゝ云ふにあり。然れども、該實驗は既に殆んど癌化期に達せる發癌剤飼養動物に向つて、Methylenblau を投與するものなるが故に、此の抑制作用は o-Amidoazotoluol の發癌機轉に向つて發揮せらるゝものなりや、或は移植腫瘍に對する如く、既に癌化完了せる組織に向つて發揮せらるゝものなりやを決し難し。惟ふに移植腫瘍乃至癌の治療の爲に Methylenblau の使用せられたり云ふ文獻は必ずしも稀ならず。然れ共癌前驅期或は癌前驅期誘發時代に向つて Methylenblau が如何に作用するやの問題は、既に癌化完了せる組織に對する又自ら異なるところある可し。

茲に於て、著者は o-Amidoazotoluol 投與と相平行し、或は相前後して、Methylenblau 投與をなし、其の最後の成績より判じて、Methylenblau の作用機轉は、特に癌前臨期乃至癌前臨誘発期に向つて極めて有力なる豫防的或は抑制的意味を有し、其の能力は既に癌化完了せるものゝ發育抑制の場合よりも遙かに著しきものあるを發見せるが故に、茲に報告せんす。

實驗材料及び方法

本實驗の爲に發癌剤として、佐々木氏⁽¹⁷⁾發見になる o-Amidoazotoluol を、抗發癌剤として局方 Methylenblau(武田)を使用せり。Methylenblau の化學構造式は下記 3 通あり。



實驗動物として購入せるラッテは、當研究室にて 2 ヶ月以上玄米(平常食)にて飼育後健康なるものを選び、實驗に供せり。實驗飼料としては、玄米を用ひ、週 1 乃至 2 回野菜を投與せり。

實驗方法 発癌前階段の時期に應じ、Methylenblau が如何に作用なすかを觀察すべく次の如き 3 種の實驗をする。

第 1 實驗 o-Amidoazotoluol と Methylenblau の同時投與實驗

白鼠 40 匹を選び、次の 2 群に分つ。實驗群(Methylenblau 群)20 匹(♂ 12, ♀ 8), 對照群 20 匹(♂ 11, ♀ 9)。實驗群に o-Amidoazotoluol と Methylenblau とを同時に投與す。此の 2 種の試薬の投與方法は豫め、玄米 100 g に 2% の Methylenblau 水溶液を平等に混和し、乾燥を俟ち、5% の o-Amidoazotoluol オレーフ油 2 g を混じラッテに攝取せしむ。但し實驗開始第 1 月は、Methylenblau 及び o-Amidoazotoluol の濃度を半減し使用す。

對照群は、5% の o-Amidoazotoluol オレーフ油 2 g を玄米 100 g に混合し投與す。但し實驗開始第 1 月は、實驗群と同様に o-Amidoazotoluol の濃度を半減し使用す。

第 2 實驗 o-Amidoazotoluol 投與期間を 200 日に限り、後 Methylenblau 投與なす實驗

o-Amidoazotoluol によりラッテに或る程度の発癌前駆の變化を與へ、之に對する Methylenblau の影響を觀察なすを目的とす。ラッテ 30 匹を選び、玄米 100 g に 2.5% の *o-Amidoazotoluol* オレーフ油 2 g を添加せるものを 30 日投與し、其の後 *o-Amidoazotoluol* の量を倍量に増加せる玄米を以て、170 日飼育し(即ち發癌剤投與期間は通計 20 日)生存せる白鼠 22 匹を 2 群に分つ。Methylenblau 群 11 匹(♂ 4, ♀ 7) 對照群 11 匹(♂ 4, ♀ 7)。Methylenblau 群には、Methylenblau 混合飼料を與ふ。Methylenblau 投與方法は、水溶液として始め 1 ヶ月間は 1 % のものを、次後 2 % の濃度に増加せるものを玄米 100 g に混和し投與す。對照群には平常食を與ふ。

第 3 實驗及第 4 實驗 *o-Amidoazotoluol* 投與期間を 250 日に限り、後 Methylenblau 投與なす實驗

o-Amidoazotoluol により肝組織が、將に発癌に至る可き變化或は既に癌化せる組織に對する Methylenblau の影響を觀察なすを目的とす。之の實驗は、系統の異なるラッテを用ひて前後 2 回に涉り行ひたり。1) ラッテ 40 匹を選び前實驗同様にして 250 日間 *o-Amidoazotoluol* 投與飼育し、生存せるラッテ 30 匹(♂ 14, ♀ 16)を 2 群に分つ。Methylenblau 群 15 匹(♂ 7, ♀ 8), 對照群 15 匹(♂ 7, ♀ 8)。前者には Methylenblau 混合飼料を與へ、對照群には平常食を與ふ。2) 前回と異なる系統のラッテ 40 匹を用ひ全く前回同様に *o-Amidoazotoluol* を 250 日投與し生存せるラッテ 22 匹(♂ 7, ♀ 15)を次の 2 群に分ち實驗す。Methylenblau 群 11 匹(♂ 3, ♀ 8), 對照群 11 匹(♂ 4, ♀ 7)。

以上 3 種の實驗とも 365 日間飼育し、生存せるラッテを屠殺し、體重、臟器重を測定し、内臓の解剖學的、組織學的検索を行ふ。生存期間中は發育狀態の觀察をなし、中途死亡せる動物も死亡時の體重臟器重を測定し内臓の解剖學的検索を行ふ。

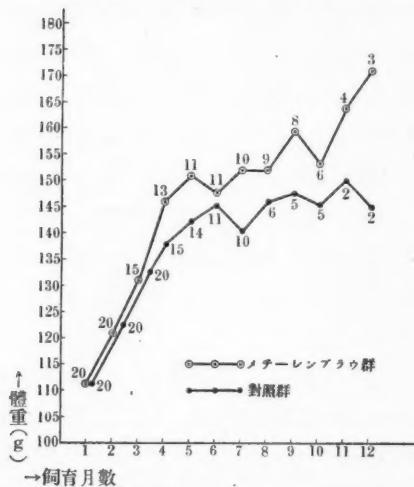
實驗成績

1. *o-Amidoazotoluol* と Methylenblau の同時投與實驗成績

1) 発育狀態(第 1 圖参照) 平均體重より觀察なすに、*o-Amidoazotoluol* と Methylenblau の同時投與群、對照群とも實驗前期に於ては大差を認めず。然るに第 3 ヶ月目より Methylenblau 群に於て發育良好となるを認む。之は對照群に於ては *o-Amidoazotoluol* の影響の強さに因るものと思考せらる。兩群とも實驗中途にて死亡せるもの甚だ多く 300 日乃至 365 日まで生存せるものは Methylenblau 群に於て 6 匹、對照群に於て 5 匹となれり。

2) 300 日以降に斃死或は屠殺せる白鼠の肝臟所見(第 1 表及び第 2 圖参照)

第1圖 第1実験動物の發育度平均圖



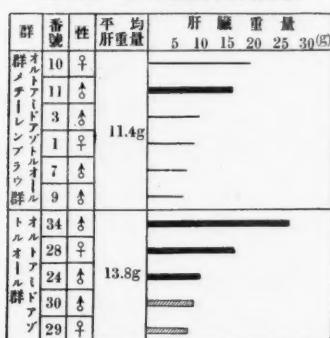
註 曲線上の数字は體重測定時の生存ラット数を示す

肝重量は Methylenblau 群は平均 11.4 g, 対照群 13.8 g にて對照群稍々重し。Methylenblau 群に於て動物 Nr. 10 の肝重量の大なるは寄生蟲 *Cysticercus* の囊胞 5 個存在せるによる。結節性増生其の他病變無きもの Methylenblau 群に 2 例を認むるも、對照群にては 1 例もなし。

第1表 第1実験動物肝臓所見及び脾、腎重量表

群	番號	性別	生存日數	體重(g)	肝 臍				脾臓重量	腎臓重量
					重量(g)	結節性増生	腺腫	癌腫		
Methylenblau+Amidoazobenzol	10	♀	365	180	19.4	+	-	-	1.5	0.5
	11	♂	365	170	15.7	+	+	+	1.1	1.1
	3	♂	352	120	9.8	+	-	-	0.6	1
	1	♀	365	168	9	-	-	-	0.8	0.9
	7	♂	304	116	7.8	+	-	-	0.3	0.6
	9	♂	326	90	7	-	-	-	0.2	0.6
	平均				140	平均 11.4	實數比 4/6	1/6 1/6 16.6%	平均 0.7	平均 0.8
	34	♂	365	130	26.5	+	+	++	0.3	0.7
	28	♀	365	150	16.7	+	+	+	1	1
对照群	24	♂	320	142	10	+	+	+	0.6	0.5
	30	♂	304	126	8.5	+	+	-	0.5	0.5
	29	♀	304	106	7.5	+	+	-	0.5	0.8
平均				130	平均 13.8	實數比 5/5	5/5	3/5 60%	平均 0.5	平均 0.7

第2圖 第1實驗動物肝重量圖



註 太線は癌發生、斜線は腺腫を表す

第2表、第1實驗成績表

成績 群	実験開始期 ラッテ數	300—365日 生存ラッテ數	結節性増生	腺腫	癌腫	癌腫 発生率
Methylenblau 群	20	6	4	1	1	16.6%
對 照 群	20	5	5	4	3	60.0%

3) 癌状態(第2圖第2表及び附圖I参照)

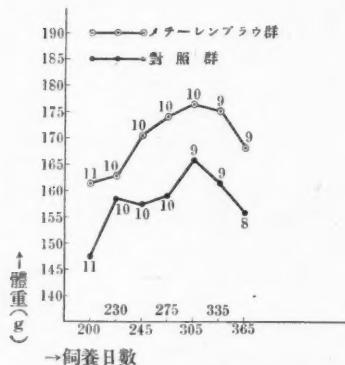
300日前に死亡せる動物につき観るに、Methylenblau群に於ては癌生せるものなし。対照群に於て1例(258日に死亡)に癌生せり。300日以上生存せる動物例につき観るに、Methylenblau群にては、6匹(♂4♀2)中1匹(♂)(16.6%)に癌生せり。対照群にては、5匹(♂3, ♀2)中3匹(♂2, ♀1)(60%)に癌生せり。365日に屠殺せる動物につき観るにMethylenblau群にては、3匹中1匹(Nr. 11)に癌生せり。而もこの肝腫は僅かに1個にして、直徑0.4cmの小なるものなり。然るに対照群に於ては、365日まで生存せるものは僅かに2匹なるも2匹とも癌生せり。而もこの中1匹(Nr. 34)にては肝腫多數を認め、最大のもの徑3cmに至る、他の1匹にては直徑1cmのもの1個を観る。

以上により、Methylenblauの添加はo-Amidoazotoluolの癌生作用を抑制なすことを認む。

4) 肝、腎、臓器重は兩群にて大差なし。(第1表参照)

2. o-Amidoazotoluol投與期間を200日に限り、後Methylenblau投與なす實驗成績

第3圖 第2實驗動物の發育度平均圖



註 曲線上の数字は體重測定時の生存
ラット数を示す

於ては、結節性増生其の他の病變無きもの2例存在するも、對照群に於ては斯るもの1例もなし。

第3表 第2實驗動物肝臓所見及び脾、腎重量表

群	番號	性別	體重 (g)	肝臓				脾臓重量 (g)	腎臓重量 (g)
				重量(g)	結節性増生	腺腫	癌腫		
Methylenblau 群	20*	♀	180	19	+	+	+	1.9	1
	9	♂	96	13.4	+	+	+	0.5	0.6
	19*	♀	180	13	-	-	-	1.2	1.1
	26	♂	160	12	+	+	+	0.5	1
	2	♀	187	11.3	+	+	-	1.4	1.1
	17*	♂	205	11	+	+	+	0.9	1
	3*	♀	200	11	-	-	-	1.2	1.1
	1	♀	160	9.5	+	-	-	1	0.8
	12	♀	147	8.2	+	-	-	1	0.9
				平均 168.3	平均 12	實數比 7/9	5/9	4/9 44.4%	平均 1.06 平均 0.9
對 照 群	16	♀	100	30	+	+	+	0.5	0.7
	7*	♂	224	22	+	+	++	1.4	1.2
	23*	♀	116	19	+	+	+	0.5	0.7
	5	♀	160	18	+	+	++	1.3	0.8
	8	♀	150	17.3	+	+	++	0.5	0.6
	13*	♂	184	15.9	+	+	+	1	1.1
	4	♀	158	12.5	+	+	+	0.4	0.9
	11*	♀	154	12	+	+	+	0.8	0.8
				平均 155	平均 18.3	實數比 8/8	8/8	8/8 100%	平均 0.8 平均 0.8

註 *印は屠殺前腹腔に墨汁を注入せる動物

1) 發育狀態(第3圖參照) 平均體重より觀察なすに、Methylenblau 群、對照群とも大差なし。

2) 實驗開始後 365 日(Methylenblau 投與期間 165 日)に屠殺せるラットの肝所見(第3表參照) 滿1年生存せる動物は、Methylenblau 群9匹、對照群7匹なり。肝重量は、Methylenblau 群は平均 12 g 對照群は平均 18.3 g にて對照群に於て甚だ大なり。Methylenblau 群の Nr. 20, Nr. 26, 對照群 Nr. 16, Nr. 23, にては囊腫の形成著明なり。Methylenblau 群に

3) 発癌状態(第4圖第4表及び附圖II参照) Methylenblau群の発癌せるもの、9匹(♂3, ♀6)中4匹(♂3, ♀1)(44.4%)に対し対照群に於ては、8匹(♂2, ♀6)全例に発癌す。殊に動物Nr.7, Nr.8に甚だ大なる肝腫を認む。365日以後に死亡せるものに就て観るに、Methylenblau群にては、Methylenblau投與日9日、125日の2匹にて、前者には発癌せず。後者は咬殺され臟器を失へる爲不明なり。対照群はo-Amidoazotoluol投與中止後5日、7日、144日に死亡せる3例にして、いづれも発癌せるものなし。

以上の所見により、Methylenblauは200日間o-Amidoazotoluol投與により或る程度の発癌前駆變化を既に惹起し居るこ思考せらるゝ肝に對しても尙其の発癌前駆變化に抗し、発癌に至らしめざるものと推考せらる。

4) 肝、腎、臟器重量を観るに、Methylenblau群に於て、対照群に比し脾重大なり。腎臟に於ては大差なし(第3表参照)。

3. o-Amidoazotoluol投與期間を250日に限り、後Methylenblau投與なし實驗成績之の實驗は系統異なるラットを用ひ前後2回實驗せり。

第3實驗成績

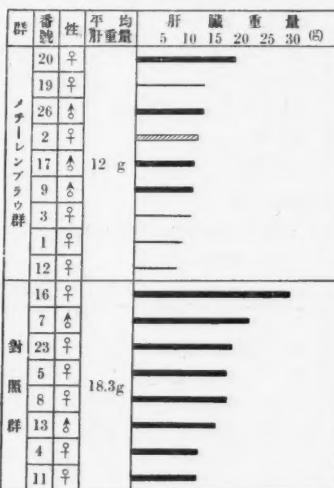
1) 発育状態(第5圖参照)體重平均曲線より観察するに、Methylenblau群は対照群に比し開始1ヶ月間は體重増加率少し。以後は兩群とも殆んど平行に體重の増加を認む。満1ヶ月生存せるものは、Methylenblau群に於て11匹、対照群9匹なり。

2) 實驗開始365日(Methylenblau投與期間115日)に屠殺せるラットの肝所見(第5表参照)

第4表 第2實驗成績表

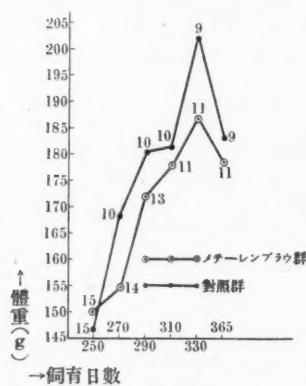
成績 群	Methylenblau 投與開始期ラット數	365日生存 屠殺ラット數	結節性 増生	腺腫	癌腫	癌腫 発生率
Methylenblau 群	11	9	7	4	4	44.4%
対照群	11	8	8	8	8	100%

第4圖 第2實驗動物肝重量圖



註 太線は癌、斜線は腺腫発生を表す

第5圖 第3實驗動物の發育度平均圖



註 曲線上の数字は體重測定時の生存ラッテ數を示す

肝重量は、Methylenblau 群に平均 14.6 g、對照群は平均 17.0 g にて、對照群に於て大なり。Methylenblau 群にては結節性増生、其の他の病變なきもの 2 例存在するも、對照群に於ては斯るものなし。

3) 発癌状態(第6圖第6表及び附圖III参照)

Methylenblau 群の発癌せるもの 11 匹(♂5, ♀6) 中 6 匹(♂4, ♀2)(64.5%) に對し、對照群に於ては 9 匹(♂5, ♀4) 中 7 匹(♂5, ♀2)(77.7%) なり。對照群の発癌率高し。

365 日以前に死亡せる動物に就て觀るに、

Methylenblau 群にては Methylenblau 投與日

第5表 第3實驗動物肝臟所見及び脾、腎重量表

群	番號	性別	體重(g)	肝臓			脾臓重量(g)	腎臓重量(g)
				重量(g)	結節性増生	腺腫		
Methylenblau 群	44	♂	190	26.7	+	+	++	1.8 1.1
	48	♂	130	24.7	+	+	++	1.7 0.7
	45	♂	232	21.1	+	+	++	1.6 1
	25	♂	295	15.8	+	-	-	1.5 1.2
	22	♀	150	15.6	+	+	+	1 0.8
	9	♀	196	12	+	+	+	1.3 0.9
	41	♀	190	11.2	-	-	-	1.7 0.9
	26	♀	164	10	+	-	-	1.4 1
	6	♂	134	9	+	+	+	0.8 0.8
	33	♀	120	9	+	-	-	0.7 0.7
	10	♀	162	8.3	-	-	-	1 0.9
平均				178.5	平均 14.6	實數比 9/11	6/11	6/11 54.5% 平均 1.3 平均 0.9
對照群	39	♂	286	23.3	+	+	++	1.3 1.2
	20	♀	116	19.8	+	+	++	1.8 0.8
	1	♂	172	19.2	+	+	++	0.7 0.8
	27	♂	190	19	+	+	+	0.9 1
	23	♂	178	18.2	+	+	++	0.6 1
	4	♀	210	15.9	+	+	-	1.5 0.9
	30	♂	166	14.8	+	+	+	0.8 0.8
	46	♀	186	11.8	+	-	-	1.3 0.8
	28	♀	146	11.5	+	+	+	0.7 0.7
	平均				183.5	平均 17	實數比 9/9	8/9 7/9 77.7% 平均 1 平均 0.9

37日、40日、62日、65日の4匹にて、此の中2匹 (Methylenblau 投與日 37, 65日) に発癌せり。対照群にては o-Amidoazotoluol 投與中止後、3日、9日、24日、26日 (他2匹は咬殺され死體なし) 生存せる4匹にして、発癌せるものなし。

以上の所見より、Methylenblau は 250日間 o-Amidoazotoluol 投與により発癌前驅の變化を或は癌化を惹起し居るこ思考せらるゝ肝に對しても尙其の発癌前驅變化或は癌化組織に抗し発癌抑制作用を現すものこ思考せらる。

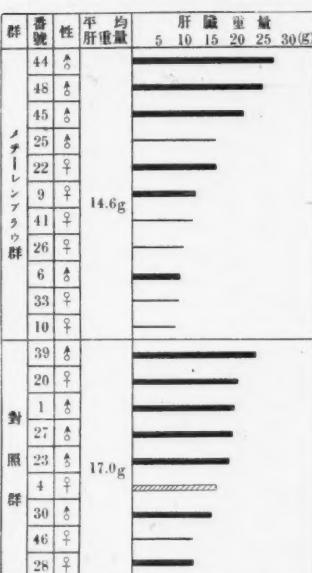
4) 脾、腎、臓器重量 (第5表参照)

Methylenblau 群に於て、脾重量大なり。腎重量に於ては差異なし。

第4実験成績

1) 発育状態 (第7図参照)

第6圖 第3実験動物肝重量圖



註 太線は癌発生、斜線は腺腫を表す

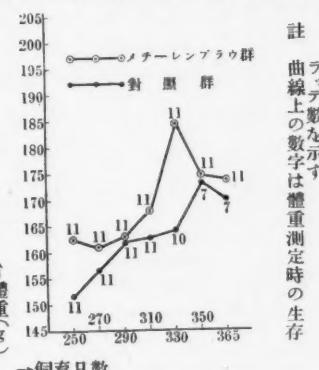
第6表 第3実験成績表

成績 群	Methylenblau 投與開始期ラット數	365日生存 屠殺ラット數	結節性 増生	腺腫	癌腫	癌 発生率
Methylenblau 群	15	11	9	6	6	54.5%
群 対 照	15	9	9	9	7	77.7%

平均體重曲線より觀察なに Methylenblau 群は對照群に比し、開始 1 ヶ月間は平均體重減少せり。(Methylenblau の影響か) 以後次第に増加し 80 日目には著しく増加せるを認む、満 1 ヶ年生存せるものは、Methylenblau 群 11 匹、對照群 7 匹なり。

2) 實驗開始 365 日 (Methylenblau 投與期間 115 日) に屠殺せるラットの肝所見 (第7表参照)。肝重量は、Methylenblau 群は平均 19.8g 對照群は平均 16.2g にて、Methylenblau 群に於て大なり。此の群に

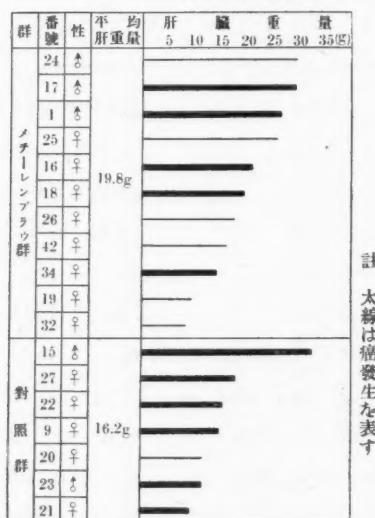
第7圖 第4実験動物の發育度平均圖



第7表 第4実験動物肝臓所見及び脾、腎重量表

群	番號	性別	體重 (g)	肝臓				脾臓重量 (g)	腎臓重量 (g)
				重量(g)	結節性増生	腺腫	癌腫		
Methylenblau 群	24	♂	238	29.5	+	-	-	2	1.1
	17	♂	222	29	+	+	+	3.2	0.9
	1	♂	190	26.4	+	+	++	2	1.1
	25	♀	202	26.2	+	-	-	1.4	1
	16	♀	133	20.7	+	+	+	0.9	0.8
	18	♀	170	19.5	+	+	+	1.5	1
	26	♀	170	17.8	-	-	-	1.8	1
	42	♀	162	16.1	+	-	-	1.6	0.9
	34	♀	154	14.2	+	+	+	1.8	0.8
	19	♀	160	9.7	-	-	-	0.6	0.8
	32	♀	106	8.9	+	+	-	1	0.7
	平均 173.3 平均 19.8 實數比 11/11				5/11	5/11 45%	平均 1.6 平均 0.9		
	平均 170.1 平均 16.2 實數比 7/7				6/7	6/7 85.5%	平均 1 平均 0.9		
對照 群	15	♂	258	32.5	+	+	++	1.5	1.5
	27	♀	203	17.5	+	+	+	1.2	1.2
	22	♀	134	15.5	+	+	+	1	0.7
	9	♀	130	15	+	+	+	1	0.7
	20	♀	182	12	+	-	-	1.2	1
	23	♂	150	11.8	+	+	+	0.8	0.8
	21	♀	134	9.5	+	+	+	0.5	0.6
	平均 170.1 平均 16.2 實數比 7/7				6/7	6/7 85.5%	平均 1 平均 0.9		

第8圖 第4実験肝重量圖



於ては多數の動物殊に Nr. 24, 17, 25 に於て囊腫の形成著明なる爲肝重量増大せり。Methylenblau 群に於て結節性其の他病變無きもの 2 例存在せり。對照群に於ては無し。

3) 癌癥状態(第8圖及び第8表参照)

Methylenblau 群の癌癥せるもの 11 匹(♂ 3, ♀ 8) 中 5 匹(♂ 2, ♀ 3) 45.4%に對し、對照群に於ては 7 匹(♂ 2, ♀ 5) 中 6 匹(♂ 2, ♀ 4) 85.5%に癌癥し、對照群の癌癥率稍々著明に大なり。

365 日前に死亡せるものに就て観るに、Methylenblau 群にては死亡せるものなし。然るに對照群に於ては o-Amidoazotoluol

中止後 72 日、80 日、90 日、93 日に 4 匹死亡し、2 匹 (72 日、93 日に死亡せるもの) に発癌せり。

以上の所見に依れば、本實驗に於ても前實驗と同様 Methylenblau の發癌抑制作用を明に認む。

4) 脾、腎臟器重量(第 7 表参照)

第 8 表 第 4 實驗成績表

成績 群	Methylenblau 投與開始期ラット數	365 日生存 屠殺ラット數	結節性 増 生	腺腫	癌腫	癌 腫 發生率
Methylenblau 群	11	11	9	6	5	45 %
對 照 群	11	7	7	6	6	85.5%

Methylenblau 群に於て、脾重量大なり。腎重量は兩群同じなり。

考 按

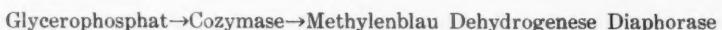
文獻 腫瘍の治療乃至研究にあたり、考慮すべきは種々の化學的物質或は生理的條件は、既に癌化せる組織に對する場合と、發癌過程の組織に對する場合とにより、其の作用が甚だ異なるこある事實にして、前者即ち抗腫瘍性物質或は條件の研究業績は甚だ多く枚舉にいこまなし。然るに後者即ち抗發癌性物質乃至條件の研究は未だ多くせず。最近肝癌發生剤の發見により、抗發癌物質乃至條件の研究は順に增加せり。「腫瘍發生に於ける全身的素因乃至一般素因」の研究題目のもとに、富田⁽¹⁸⁾、山下⁽²¹⁾の研究あり。安藤⁽²⁾は主食物としての白米、玄米、小麥の肝癌發生に對する影響を検するご同時に、酵母及び小麥内含有物質の肝癌發生抑制作用を發見せり。中原⁽¹³⁾等は酵母或は牛肝の顯著なる肝癌發生抑制作用を認め、木下⁽¹¹⁾等は米糠による肝癌發生抑制作用を研究せり。著者⁽⁸⁾は前報の如く、去勢により著しく發癌促進せしめらるゝラットに對して、Prolan (Bayer) 注射を施し、この發癌促進機轉を甚しく抑制せしめたり。これにより内分泌殊に高次性ホルモンの作用が肝癌發生に於ても甚しく影響を齎すことを知る。是等の研究は多くは抗發癌性物質を癌腫發生の前階段期に作用せしむることにより夫々其の目的を果せるものなり。發癌剤の組成が簡単なると同様に若し抗發癌剤の化學構造も亦これ簡単なりとせば、發癌機構の究明に甚だ好都合なり。

從來色素を惡性腫瘍の化學的治療に使用し、或は移植腫瘍の發育に對する影響を觀察せる研究業績は敢て渺しこせず。Methylenblau も其の一にして、Jacobi⁽⁹⁾ は Methylenblau 投與により手術不可能なる腫瘍の發育の停止と生存期間の延長を認

め。Roffo⁽¹⁶⁾ は顔面皮膚癌に應用し、其の有效なるを認めたり。Brooks⁽³⁾ は移植腫瘍の発育を抑制せりと報告す。中村⁽¹⁵⁾は種々なる動物に各種の肉腫或は癌腫の移植實驗に於て極く輕度の抑制作用を認めたり。最近岸本⁽¹²⁾は Methylenblau により腫瘍組織の呼吸作用増進、嫌氣性解糖作用の抑制せらるゝ實驗根據より惡性腫瘍の發育に對する影響を觀察し、腫瘍自身に注入することにより稍々著明の抑制作用を認め、靜脈内注入によりては影響なしと報告せり。以上この方面に於ける從來の業績は既に癌化せる組織に就ての移植實驗乃至臨牀實驗にして、即ち前述の抗腫瘍性の意味に於ける實驗にして、抗發癌性の研究即ち癌發生過程に於ける影響に就て研究せるものなし。

Methylenblau の如き、組織の酸化作用の進行如何により可逆的に或は酸化され、或は還元され、而も組織の呼吸作用を促進する可せらるゝ(林實驗)⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾色素の發癌過程に於ける影響の觀察は、癌發生過程の病理の究明に且又豫防乃至治療方面に於ても、甚だ意味あるものと思考す。著者は前回、Methylenblau が o-Amidoazotoluol の發癌に抑制的に作用なすことを報告せるが、今回は此の事實を更に確證し、併せて Methylenblau が既に癌化せる組織に直接作用なすものが、或は o-Amidoazotoluol の發癌機轉に拮抗的に作用なすが故に其の抑制作用を呈するかを吟味し得たり。

o-Amidoazotoluol 肝癌發生に對する Methylenblau の作用 扱て Methylenblau は Ehrlich⁽⁵⁾ の組織化學的研究により紹介せられて (Sauerstoffbedürfnis des Organismus 1885) 以來化學療法の目的にて極めて廣汎に使用せられ、相當に著明なる效果を示しつゝあることは周知の事實にして、著者が緒論に述べたる婦人も亦其の1例なりと謂ふを得べし。他方理論的生物化學的研究方面に於て、Unna は所謂酸素部位の指示方法として Leukomethylenblau の酸化現象を利用し(本解釋には難點あり)、Thunberg⁽¹⁹⁾ は細菌の還元能を検索なす方法として Methylenblau を使用せり。其の他多くの生物化學的研究を積んで、組織の酸化還元能を案する一方途として所謂 Methylenblau 系統なる呼吸系を細胞内に設け、その還元電壓の近接せる細胞に酵素系と理論的に聯繫せしむるに至れり。最近 Euler⁽⁶⁾ の掲げたる Methylenblau 系統の模型圖は次の如し。



これは Cozymase との關係を述べたる模式なれ共、其の他種々の Dehydrogenase に對して Methylenblau が反應なす場合あるべきは想像に難からず。従つて未だ完全に Methylenblau の關與し得る酵素系の闡明せられし譯には非ざれ共凡そ吾人の判断の出發點たり得るものば、この既知の Methylenblau 系が組織細胞の癌化機轉

に及ぼす影響の問題に外ならずと云ふべし。而して茲に組織細胞が平常なるか、障害せられたるか、癌前驅的状態に在るか、或は癌化せるかによりて、夫々この Methylenblau に關する酵素系には、一定の變異ありと思考せらるゝが故に、その系統内に於ける Methylenblau の酵素としての媒介的位置にも變異あるものと豫測せらるべき。今 Warburg⁽²⁰⁾ の所説に従つて癌化せる組織が酸化呼吸の低下と、嫌氣性及び好氣性解糖作用の上昇とを示すものなりとせば、酸化酵素系の一部に介在すると豫想せらるゝ Methylenblau は、恐らく前者即ち酸化呼吸の低下を賠償して癌性呼吸様式の陥らんとする組織を防禦せんとする可し。このこたるや、直接間接に解糖作用の抑制を齎すに相違なけれども、この系統に於ける Methylenblau の役割は上來述べたるが如き理由の故に詳かならずと云ふの外なし。

却説、o-Amidoazotoluol が肝癌組織に作用なすに當つて先づ酸化呼吸を障礙するにもせよ或は先づ嫌氣性及び好氣性解糖作用を馴致なすにもせよ、この兩條件が腫瘍として十分に具備せらるる時期は、凡そ組織學的に觀るも十分癌化せる場合に初めて實現せらるる現象なるが故に、組織學的に未だ癌化せざる時期即ち癌前驅期乃至癌前驅誘發期に於ては、孰も未だ上述の新陳代謝異常様式が、完全に出現し居らざるものと見做して支障なからべし、又事實實驗成績もこれを支持しをれるが如し。従つて著者が Methylenblau の使用様式を 3 者に分ちたるは次の如く思考し得らるべし。

第 1 實驗 o-Amidoazotoluol 飼養と同時に Methylenblau 投與を行へる場合には、未だ腫瘍性新陳代謝の現はれざる可逆的時期に於て、Methylenblau を與へるものと云ふべし。

第 2 實驗 o-Amidoazotoluol 飼養 200 日にして Methylenblau 投與と換えたるものは癌前驅乃至癌前驅誘發期新陳代謝狀態に向つて Methylenblau を與へたるものとし、此の期は不可逆的新陳代謝變化の基礎既に獲得せられたるものに相違なけれども、その勢に於て未だ潜在期に在るものなれば比較的 Methylenblau の作用餘地あるものと云はるべし。

第 3 及び第 4 實驗 o-Amidoazotoluol 飼養 250 日にして、Methylenblau 投與と換えたるものは癌前驅乃至癌化期の新陳代謝を呈せるものに Methylenblau を與へたることとなるが故に、癌前驅期に在るものに向つては抑制作用の餘地あるべきも、既に癌化せるものに向つては其の挽回作用は著しく困難となり、後者に對しては恰も移植腫瘍の吸收を企圖する場合と等しき事情に在るが故に、從來の報告と等しく、Methylenblau の作用機會の比較的困難となれる場合なりと見做し得べし。

著者の実験を通覧することによりて、此等の解釋の妥當なることは容易に、解せらるべきも、これを改めて一括實驗成績略表として示せば第9表の如し。

第9表 発癌率及び Methylenblau の抗発癌率表

成績 實驗	Methylenblau 群			對照群			抗発癌率
	剖検動物數	発癌動物數	発癌率	剖検動物數	発癌動物數	発癌率	
I 實驗	6	1	16.6%	5	3	60%	3.6
II 實驗	9	4	44.4%	8	8	100%	2.2
III+IV 實驗	22	11	50 %	16	13	81%	1.6

即ち今試みに對照群の癌化率を Methylenblau 群の癌化率にて除したるもの以つて、Methylenblau の抑制率乃至抗発癌率と稱する時は、その抗発癌率は第1實驗群に於て最も大にして第3第4實驗群に於て最も小なると謂ふべし。而しこのこたるや前述の Methylenblau か、發癌過程の各期に於ける組織細胞に對する作用機會の有無及び程度の相違と相關なすものにして、未だ癌性變化に隔ること遠き組織程に Methylenblau の作用機會大なりと思考なすことを得べし。而、其のこたるや o-Amidoazotoluol が組織細胞に作用して未だ幾何にもなき時期即ち之を o-Amidoazotoluol の藥物學的乃至毒物學的作用時期と稱するを適當とすべきも、この時期に當つては、Methylenblau の作用に期待し得べきもの多しう云ふを得べし。又 o-Amidoazotoluol 作用して次第に組織細胞が癌性を獲得せる時期、即ちこれを o-Amidoazotoluol の腫瘍學的作用時期と稱するを適當とすべきも、この時期に當つては Methylenblau の作用能は著しく局限せしめるるものと云ふを得べし。

以上は一般的に Methylenblau の組織に對する生物化學的作用より案じて得たる説明なるも、更に顯微鏡的、組織化學的に o-Amidoazotoluol 肝癌發生途次の組織に向つて、Methylenblau が如何なる變化を齎すものなりやと云ふ問題に就ては、著者は模型實驗を用ひて、次編に論ずることとすべし。

結論

- 1) 化學的構造明なる Anilin 色素たる Methylenblau につき其抗発癌性を検索せり。
- 2) 實驗方法として、イ) 實驗開始より o-Amidoazotoluol と Methylenblau を同時に投與す。ロ) o-Amidoazotoluol 投與期間を 200 日とし、後 Methylenblau を投與す。ハ) o-Amidoazotoluol 投與期間を 250 日とし後 Methylenblau を投與す。3

I. Versuch.
Methylenblaugruppe.



Nr. 1 (9 g)



Nr. 7 (7.8 g)



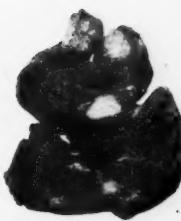
Nr. 3 (9 g)



Nr. 10 (19.4 g)



Nr. 11 (15.7 g)



Nr. 24 (10 g)

Kontrolle



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 29 (7.5 g)



Nr. 28 (16.7 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



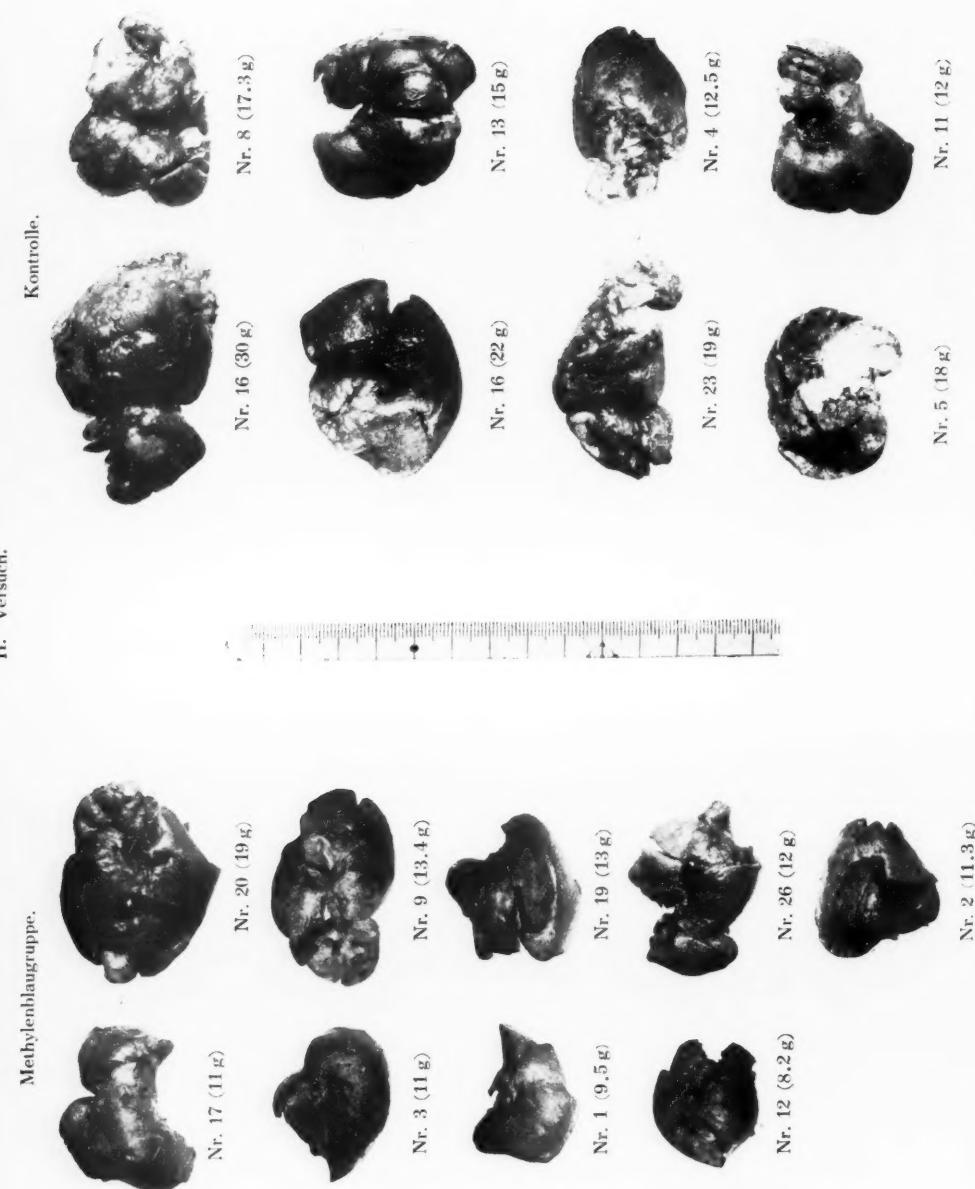
Nr. 34 (26.5 g)



Nr. 30 (8.5 g)



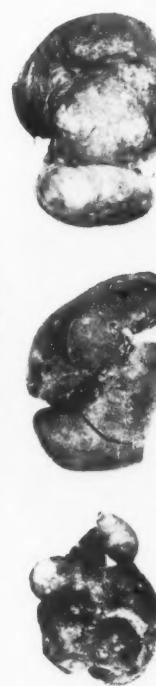
Nr. 34 (26.5 g)



Sukeharu Ito: Über die hemmende Wirkung von Methylenblau bei experimenteller Hepatomentstehung. II. Mitteilung.

III. Versuch.

Methylenblaugruppe.



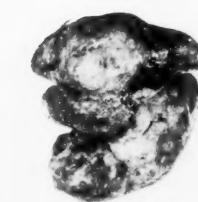
Nr. 6 (9 g)



Nr. 22 (15,6 g)



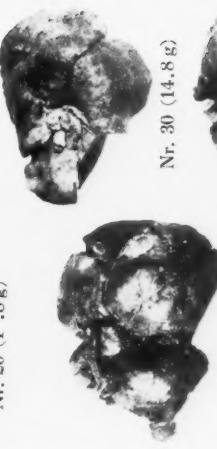
Nr. 33 (9 g)



Nr. 44 (26,7 g)



Nr. 48 (24,7 g)



Nr. 10 (8,3 g)



Nr. 20 (1,8 g)



Nr. 41 (11,2 g)



Nr. 45 (21,1 g)



Nr. 26 (10 g)



Nr. 27 (19 g)



Nr. 28 (11,5 g)

Kontrolle.



Nr. 23 (18,2 g)



Nr. 4 (15,9 g)



Nr. 30 (14,8 g)

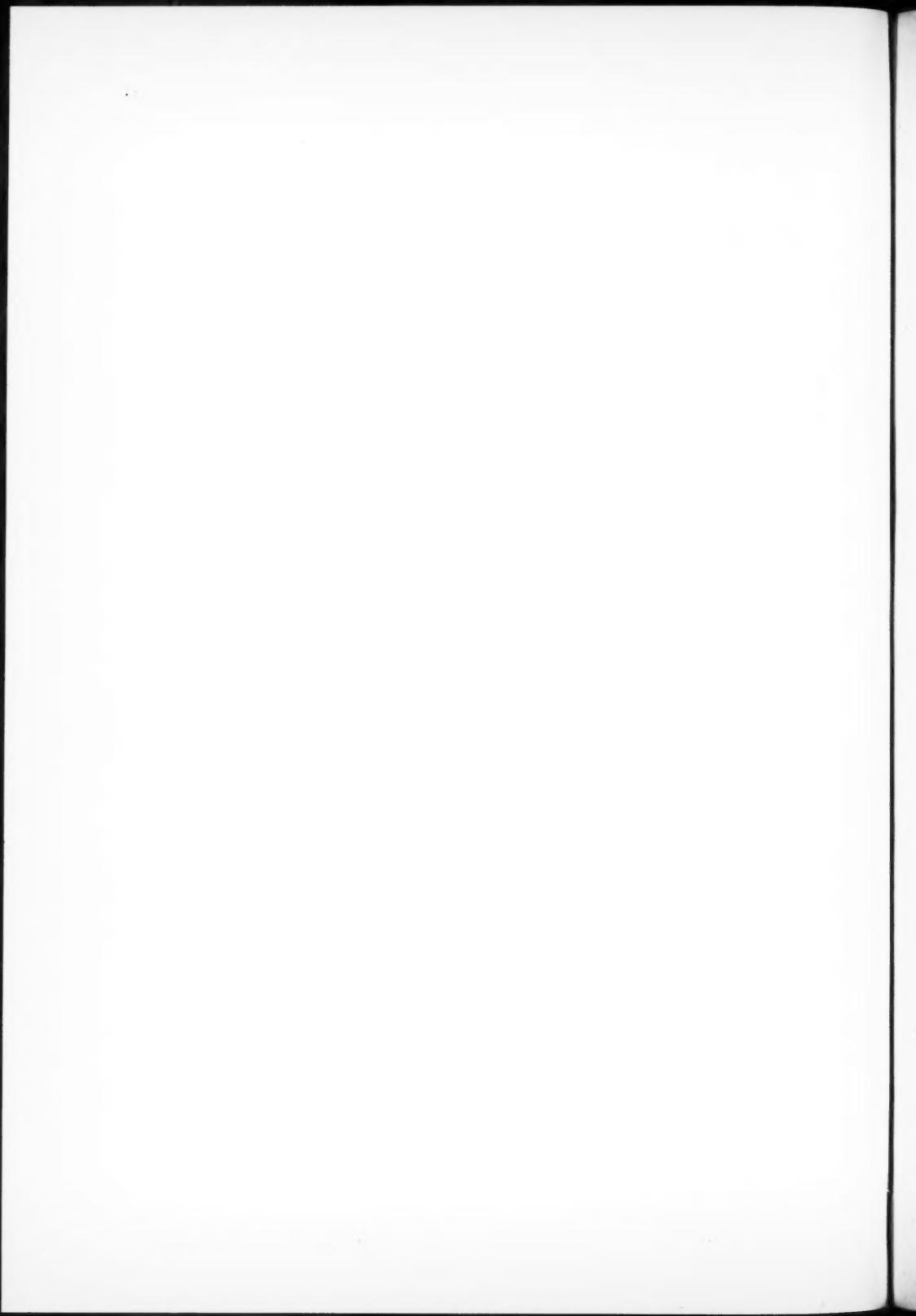


Nr. 46 (11,8 g)



Nr. 27 (19 g)





實驗ごも實驗期間を満1ヶ年せり。

3) Methylenblau, o-Amidoazotoluol 兩者の同時投與方法として、先づ Methylenblau を水溶液とし、玄米に吸著せしめ、其の乾燥を俟ち、o-Amidoazotoluol オレーフ油溶液を混じ、同時に兩者がラッテに攝取せらるるべく工夫せり。

4) Methylenblau と o-Amidoazotoluol を同時投與せしもの、o-Amidoazotoluol 投與期間を 200 日とし後 Methylenblau を投與せるもの、o-Amidoazotoluol 投與期間を 250 日とし後 Methylenblau を投與せるものの順位に夫々の對照群に比し発癌抑制作用の發揮せらるるを確認せり(第2, 第4, 第6, 第8, 第9表参照)。

5) 本研究により人工色素たる Methylenblau が抗發癌性を有すること明にして、その效力は o-Amidoazotoluol の作用により組織が癌前驅期乃至癌前驅期誘發状態にある場合の方既に癌化せる組織に對するよりも遙かに有力なり。

擱筆にあたり京大醫學部天野助教授の御懇篤なる御指導御校閲を深謝す。

主要文獻

- 1) 天野, 富田, 癌. 31, 86(昭和 12. 4). 2) 安藤, 癌. 32, 252(昭和 13. 6), 第2報, 癌. 33, 229(昭和 14. 6), 癌. 34, 356(昭和 15. 12). 3) Brooks, Z. f. Krebsforsch. 42 Rep. 76/1935. 4) Cook, T. W. and Koundway, E. L., Am. J. Cancer, 39, 381, 521(1940).
- 5) Ehrlich, P., Sauerstoffbedürfnis des Organismus (1885). 6) Euer, H. and Hellstrom, H., Z. physiol. Chem. 252, 31 (1938). 7) 林, 河瀬, 癌. 30, 446(昭和 11. 6). 8) 伊東, 第1報, 癌. 33, 446(昭和 14), 第2報, 癌. 34, 21(昭和 15. 2), 34, 301(昭和 15. 10).
- 9) Jacobi, J. Amer. Med. Ass. 47, Nr. 19 (1906). 10) 清野, 天野, Acta. Schal. Med. Univ. Imp. Kioto 20, 19(1937). 11) 木下, 癌. 33, 225(昭 14. 6). 12) 岸本, 產婦人科紀要. 21, 183(昭和 13. 2). 13) 中原, 藤原, 森, 癌. 33, 65(昭和 14. 4), 34, 58(昭和 15. 4), 癌. 32, 465(昭和 13. 10), 癌. 33, 406(昭和 14. 10). 14) 中谷, 中野, 小原, 癌. 32, 240(昭和 13). 15) 中村, 日本病理學會誌. 25, 721(1935). 16) Roffo, A. H., Z. f. Krebsforsch. 37, 1 (1932). 17) 佐々木, 吉田, Virchow Archiv. 295, 175 (1935). 18) 富田, 癌. 31, 86(昭和 12. 4), 第2報, 癌. 31, 225(昭和 12. 6), 第3報, 31, 232(昭和 12. 6), 第4報, 32, 73(昭和 13. 2), 第5報, 32, 258(昭和 13. 6). 19) Thunberg, T., Handb. Abt. IV. 2 (1936). 20) Warburg, O., Stoffwechsel der Tumoren. (1926). 21) 山下, 癌. 32, 275(昭和 13. 6), 第2報, 癌. 33, 219(昭和 14. 6).

Auszug**Über die hemmende Wirkung von Methylenblau bei experimenteller Hepatomentstehung. II. Mitteilung**

Von

Sukeharu Ito

(Aus dem Laboratorium des Gunsei-Krankenhauses. Leiter: Dr. S. Amano)

(Mit TAFELN XXVI-XXVIII)

(Eingegangen am 22. März 1941)

Auf dem letzten Kongress legte ich dar, dass bei der experimentellen Hepatomentstehung Methylenblaufütterung im letzten Stadium des Versuchs die Hepatombildung hemmt.

Unter Verwendung von weissen Ratten untersuchte ich jetzt in verschiedener Art und Weise den Einfluss von Methylenblau auf die o-Amidoazotoluol-Hepatomentstehung, wobei es mir gelang, eine deutliche Antikanzerogenität des Methylenblau festzustellen. Im folgenden möchte ich meine Versuchsresultate berichten.

Versuchsmethode

o-Amidoazotoluol und Methylenblau wurden auf dreierlei Weise verabreicht und zwar wie folgt.

I) Die weissen Ratten dieser Gruppe wurden von Anfang an mit unpoliertem Reis gefüttert, von dem 100 g zuerst mit 5 g 2%iger Methylenblauwasserlösung, dann mit 2 g 5%igem *o*-Amidoazotoluololivenöl gemischt wurden. Die 300-365 Fütterungstage überlebenden Ratten wurden makroskopisch sowie mikroskopisch genauen Untersuchungen unterworfen.

II) Die weissen Ratten dieser Gruppe wurden zuerst für eine gewisse Zeitdauer mit *o*-Amidoazotoluol allein gemischtem Reis, dann mit Methylenblau allein gemischtem Reis gefüttert und dann nach im ganzen 365 Fütterungstagen getötet. Die getöteten Ratten wurden makroskopisch sowie mikroskopisch sorgfältig untersucht. Die Zeitdauer der *o*-Amidoazotoluol-fütterung betreffend, liessen sich zwei bestimmte pathologische Prozesse zufolge 2 Perioden unterscheiden, nämlich 1) ein Zeitraum von 200 Tagen, in welchem die Leber einen präkarzinomatösen Zustand erkennen liess, 2)

ein Zeitraum von 250 Tagen, in welchem das Lebergewebe allmählich einen karzinomatösen Zustand zeigte. Nach diesen Tagen wurde Methylenblau-fütterung durch o-Amidoazotoluolfütterung ersetzt.

Versuchsresultate

Das Verhalten der Leber bei den einzelnen Versuchsgruppen ist aus unten stehenden Tabellen zu ersehen.

I) Gleichzeitige Verabreichung von o-Amidoazotoluol und Methylenblau.

Resultat Gruppe	Anzahl der Ratten		knotige Hyperplasie	Adenom	Karzinom	Prozentsatz des Karzinoms
	bei Beginn	300-365 Tage überlebend				
Methylenblaugruppe	20	6	4	1	1	16.6%
Kontrolle	20	5	5	4	3	60 %

II) Verabreichung von Methylenblau nach 200 o-Amidoazotoluolfütterungstagen.

Resultat Gruppe	Anzahl der Ratten		knotige Hyperplasie	Adenom	Karzinom	Prozentsatz des Karzinoms
	bei Beginn	getötet nach 365 Tagen				
Methylenblaugruppe	11	9	7	4	4	44.4%
Kontrolle	11	8	8	8	8	100 %

III) Verabreichung von Methylenblau nach 250 o-Amidoazotoluolfütterungstagen.

Resultat Gruppe	Anzahl der Ratten		knotige Hyperplasie	Adenom	Karzinom	Prozentsatz des Karzinoms
	bei Beginn	getötet nach 365 Tagen				
Methylenblaugruppe	15	11	9	6	6	54.5%
Kontrolle	15	9	9	9	7	77.7%

IV) Gleiches Fütterungsverfahren wie bei III.

Resultat Gruppe	Anzahl der Ratten		knotige Hyperplasie	Adenom	Karzinom	Prozentsatz des Karzinoms
	bei Beginn	getötet nach 365 Tagen				
Methylenblaugruppe	11	11	9	6	5	45 %
Kontrolle	11	7	7	6	6	85.5%

Die Resultate des III. und IV. Versuchs waren fast gleich.

Eine Zusammenstellung in bezug auf die Entstehung von Karzinom bietet Tabelle V.

V)

Versuch	Methylenblaugruppe			Kontrolle			antikarzinogenen Koeffizient der Methylenblaugruppe
	Anzahl der Ratten	Karzinom des Karzinoms	Prozentsatz des Karzinoms	Anzahl der Ratten	Karzinom des Karzinoms	Prozentsatz des Karzinoms	
I	6	1	16.6%	5	3	60%	3.6
II	9	4	44.4%	8	8	100%	2.2
III IV	22	11	50%	16	13	81%	1.6

Prozentsatz der Kontrolle

Wenn man den Koeffizienten, Prozentsatz der Methylenblaugruppe, als antikarzinogenen Koeffizienten auffasst, so ergibt sich, dass in Versuch I der Koeffizient am höchsten ist, dann folgt Versuch II und schliesslich Versuch III und IV, wo er am kleinsten ist. Hieraus geht hervor, dass das Methylenblau die antikarzinogene Kraft in augenfälliger Weise gegenüber dem praekarzinomatösen Zustande der Leber oder gegenüber dem Verhalten, welches diesen praekarzinomatösen Zustand hervorruft, darstellt, d. h. es charakterisiert das Anfangsstadium bei dem o-Amidoazotoluolfütterungsversuch. Umgekehrt erlahmt die antikarzinogene Kraft des Methylenblau gegenüber dem karzinomatösen Charakter der Leber im letzten Stadium des o-Amidoazotoluolfütterungsversuchs. Auf Grund dieser Versuchsresultate bin ich der Meinung, dass Methylenblau auf die Eigenschaft von o-Amidoazotoluol, welche den Hepatomentstehungsprozess hervorruft, hemmend wirkt.

Diese Beobachtung dürfte für die Bestimmung des Karzinomentstehungsmodus oder die Prophylaxis von grosser Wichtigkeit sein. Wie die Literatur erkennen lässt, fand Methylenblau therapeutisch als chemisches Mittel gegen Geschwulste Verwendung. Es übt der allgemeinen Auffassung

nach eine leicht hemmende Wirkung auf die Entwicklung des transplantierten Tumors aus. Meinen Versuchsresultaten nach möchte ich jedoch annehmen, dass diese hemmende Wirkung des Methylenblau sehr viel offensichtlicher gegenüber prakarzinomatösem Gewebe als gegenüber transplantiertem Tumor oder spontanem Karzinomgewebe zutagegetritt.

實驗的肝癌發生に及ぼす飼料の影響

第4編

實驗的肝癌發生と肝油*

安 藤 德 弘

(京都帝國大學醫學部病理學教室 指導 杉山繁輝教授)

(圖版 XXIX)

(昭和 16 年 4 月 16 日受付)

緒論

曩に余は前編の論述に於て己が研究の著想を明らかにすると共に其の實驗成績の一部即ち o-Amidoazotoluol 肝癌發生に對する穀物食(白米食, 玄米食, 小麥食, 大麥食等)の影響を詳にしたのであるが, 其の際肝油の影響も之を追究するところがあつた。從つて之等の實驗は, 凡て同一系統のラツテを使用し, 而も兩々相俟つて同時(昭和 12 年 2 月)に之を開始し, 共々平行して實驗を行なわせた譯であるが, 一方穀物食の影響に就いては、既に本論第 1 編, 第 2 編, 第 3 編に於て記述した處であるから, 本編に於ては o-Amidoazotoluol 肝癌發生に對する肝油の影響を論述する。而して本編に於ては, 1) 280 日飼養(o-Amidoazotoluol の投與 280 日)の場合, 2) 長期飼養(o-Amidoazotoluol の投與 388 日)の場合, 3) o-Amidoazotoluol の投與期間を 180 日と限定する長期飼養の場合, 以上三つの場合を一括して論述する事とする。

實驗材料及び實驗方法

實驗材料

實驗動物: 體重 60 g 乃至 100 g の健康なラツテ 60 匹(本論第 1 編, 第 2 編, 第 3 編の場合と全く同一系統のものである)。**飼料:** 小麥, 野菜, 水。**發癌劑:** o-Amidoazotoluol。**肝油:** 日本藥局方の肝油。**オレフ油:** 日本藥局方のオレフ油。

實驗方法

飼養方法及び飼養期間: 小麥に一定の割合に o-Amidoazotoluol を混和させ, 之を主食としてラツテを飼養したのであるが, 外に, 每日少量の野菜及び水を投與した事は, 余のは迄の實驗と同様である。而して飼養日數 181 日に到達した時 22 匹の

*本編の内容は, 昭和 14 年 4 月, 第 31 回癌研究會學術集談會に於て報告した。

ラツテが生存して居たのであるが、其の中から 5 匹のラツテを選び、此の 5 匹のラツテに對しては、181 日以後 o-Amidoazotoluol の投與を中止し、唯、肝油及びオレフ油のみを一定の割合に小麥に混和させたものを主食物として投與した。斯くて之等のラツテが死亡するまで飼養を繼續し、以て肝癌發生状態を検査したのである(此の群を第 3 群とする。之は本論第 3 編の實驗、即ち、o-Amidoazotoluol の投與期間を 180 日ご限定する長期飼養の場合に該當する)。勿論此の群のラツテ數は甚だしく少數であるから、之等のラツテが発癌するまで生存して居るかうかと言ふ事は頗る疑はしいものが有つた譯である。然し本實驗に於ては、實驗初期に於て比較的多數のラツテが死亡した爲、此の群に多數のラツテを使用したならば、他の實驗に支障を生ずる怖が有つた爲止むを得なかつた譯である。

次に飼養日數 181 日に於て 5 匹のラツテを分離した残り 17 匹は、引續き o-Amidoazotoluol を投與して飼養を繼續したのであるが、飼養日數 280 日に到達した時、其の際生存して居るものの中から任意に 6 匹のラツテを選び、之を屠殺解剖して内臓の變化を検査した(此の群を第 1 群とする。之は本論第 1 編の實驗、即ち o-Amidoazotoluol を 280 日間投與し、280 日で屠殺した場合に該當する)。

飼養日數 280 日で屠殺解剖した残りのラツテは、更に引續き o-Amidoazotoluol を投與して飼養を繼續したのであるが、飼養日數 388 日に到達した時 o-Amidoazotoluol の使用を中止し、389 日以後は、唯、肝油及びオレフ油のみを一定の割合に小麥に混和させたものを主食物として投與したのである。斯くて之等のラツテが死亡するまで飼養を繼續し、ラツテが死亡すれば、其の都度之を解剖して内臓の變化を検査した(此の群を第 2 群とする。之は本論第 2 編の實驗、即ち、o-Amidoazotoluol の投與期間を 388 日ごする長期飼養の場合に該當する)。

對照實驗の取扱に就て: 本實驗に使用したラツテは、本論第 1 編、第 2 編、第 3 編の實驗に使用したラツテご全く同一系統のものであり、實驗も亦何れも同時に之を開始し、而も共々平行して之が進行を計つた譯であるから、本實驗に於ける對照には凡て本論第 1 編、第 2 編、第 3 編の實驗を以て之に當てて居る。

即ち、本論第 1 編に於ける小麥群は、之を本實驗の第 1 群に對する對照とし、本論第 2 編に於ける小麥群は、之を本實驗の第 2 群に對する對照とした。又本論第 3 編に於ける小麥群は、之を本實驗の第 3 群に對する對照とした譯である。

o-Amidoazotoluol 及び肝油の使用方法並びに使用分量: o-Amidoazotoluol は實驗初期に於ては之を肝油に溶解させて使用した。即ち、先づ o-Amidoazotoluol の 25 g

を取り、之を500 g の肝油に溶解させ、次に此の o-Amidoazotoluol の肝油溶液 27 g を取つて 1 kg の小麥に混和し、之を主食としてラツテに投與したのである。處が、飼養日數 70 日に到達した時、肝油の使用分量を減少する事ごとし(此の理由に就ては別に述べる)、71 日以後は、小麥 1 kg に對して肝油 10 g を添加する事ごとした。即ち、o-Amidoazotoluol は之をオレフ油に溶解させ(オレフ油 500 g に對し o-Amidoazotoluol 25 g)、先づ其の 27 g を取り、之に肝油 10 g を加へ、之を 1 kg の小麥に混和させて使用したのである。處が飼養日數 180 日に到達した時、再び肝油の使用分量を減少する事ごとした(此の理由に就ても別に述べる)。即ち 181 日以後に於ては、o-Amidoazotoluol のオレフ油溶液 27 g に肝油 2 g を添加し、之を 1 kg の小麥に混和したものを使用したのである。

尙第 3 群に於ては、飼養開始後 180 日間 o-Amidoazotoluol を投與し、又第 2 群に於ては、飼養開始後 388 日間 o-Amidoazotoluol を投與したのであるが、夫れ以後は雙方とも其の投與を中止し、唯オレフ油 27 g に肝油 2 g のみを 1 kg の小麥に混和させたものを飼料とした譯である。

肝油使用分量の決定理由: 實驗初期に於ては、小麥 1 kg に對して o-Amidoazotoluol の肝油溶液 27 g を混和したものを使用したのであるが、肝油其のもの的小麥に對する割合は、小麥 100 g に對して肝油略々 2.6 g となつて居る。處が、此の時期に於てはラツテの死亡するもの比較的多く、小麥群に比較しても確に其の死亡率が高い事を認めたのである。其處で、余は肝油の使用分量に著眼し、之を吟味する事ごとした。肝油の使用分量に就ては、既に川上、山本(1934)の研究が報告されて居るが、其の報告には「肝油が其の薬效を著すのは其の少量を使用した場合の事で、少しく其の量が多いと却つて有害なものである。而して其の限度は、食餌 100 g に對して肝油 2 g で、此の限度を超過するご最早有害に作用するものである。」と記載して居る。處が余の實驗の場合は、小麥 100 g に對して肝油略々 2.6 g となつて居るから、此の分量では既に肝油の給與過剰となつて居るものと解釋した譯である。故に、飼養日數 71 日以後に於ては、小麥 100 g に對して肝油 1 g の割合とした。するミラツテの死亡率は減少して來たが、今度は體重增加の遅延する事が眼立つて來た。其處で、余は是亦肝油の給與過剰に因るものではないかと考へ、肝油の使用分量を再度減少する事ごとした。而して其の使用分量を決定する爲に、今度は人間に對する肝油の使用分量を基準として計算を試みた。勿論、人間の場合ミラツテの場合を同一に取扱ふ事は出来ない譯であるが、大體の見當を附ける爲に斯様な計算方法を探つたのである。即ち體重 60 kg

を有する人間に對する肝油の藥用量を1日 6g とするごと、體重 200g に對する肝油の1日量は 0.02g となる。するごと、體重 200g のラツテに對する肝油の1日量も亦 0.02g となる。今假に體重 200g を有するラツテが1日に略々 10g の小麥を食するものとすれば、小麥 10g に對して 0.02g の肝油を添加すればよい事となり、小麥 100g に對しては肝油 0.2g の割合となる。故に飼養日數 181 日以後に於ては、小麥 1kg に對し肝油 2g を混和したものを使用したのである。

實驗成績

死亡率： 飼養開始後 70 日までは、小麥 1kg に對して肝油略々 26g を添加したものを飼料としたのであるが、此の期間内に死亡したラツテの數は 36 匹に及び、實驗開始時の 60 匹に對して 60% に當つて居る(此の期間を初期とする)。處が飼養開始後 71 日から 180 日までの間は、小麥 1kg に對して肝油 10g を添加したものを飼料としたのであるが、此の期間内に入るごと死亡するラツテの數が著しく減少し、僅かに 2 匹のラツテが死亡したのみである。而して實驗開始時の 60 匹に對する割合は 3.3% に當る(此の期間を第 2 期とする)。又飼養日數 181 日以後に於ては、小麥 1kg に對して肝油 2g を添加したものを飼料としたのであるが、181 日から 280 日までの間に死亡したラツテの數も亦比較的少く、其の數は 6 匹で、實驗開始時の 60 匹に對して 10% に當つて居る(此の期間を第 3 期とする)。更に、281 日から實驗終了に至るまでの間に残りのラツテ全部が死亡した譯であるが、實驗開始時の 60 匹に對する割合は 26.7% である(此の期間を後期とする)。

以上の成績を各時期に依つて之に該當する期間内に於ける小麥群の死亡率に比較するごと第 1 表の如くであるが、此の表で説明を要する事は、1) 兩群とも 280 日飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與 280 日)の場合、長期飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與 388 日)の場合及び *o-Amidoazotoluol* の投與時間を 180 日に限定する長期飼養の場合を同時に取扱つて居る事、及び 2) 飼養日數 280 日で屠殺した 6 匹のラツテは、若し之を屠殺しなかつたなれば、何れも 281 日以上生存し、當然後期の部分に入るべき筈のものであるから、之は後期に入れて取扱つて居る事である。

第 1 表 死亡率の比較

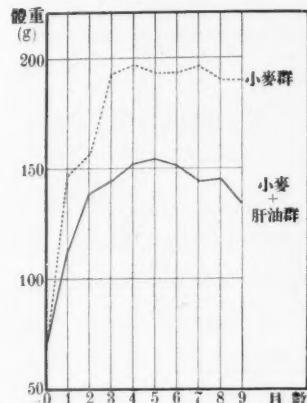
實驗群	實驗開始時のラツテ數	初期	第 2 期	第 3 期	後期
小麥+肝油群	60	60%	3.3%	10%	26.7%
小麥群	150	47%	4 %	9%	40 %

さて第1表を見るに、初期に於ては兩群とも其の死亡率が高くなつて居るが、小麥+肝油群の死亡率は特に高く 60%で、之を小麥群の 47%に比較しても、其の間に相當の開きの存在する事が認められる。處が第2期になると、兩群とも死亡率が著しく減少して居る。而も兩者の死亡率は互に相接近し、小麥+肝油群の 3.3%と小麥群の 4%と殆ど差がない。第3期に於ては、兩群とも其の死亡率が幾分増加して居るが、小麥+肝油群は 10%で、小麥群の 9%と殆ど大差がない。後期に於ては、小麥+肝油の死亡率は 26.7%となつて居るが、小麥群の死亡率は 40%で、其の間に相當の開きが生じて居る。其處で今一度此の成績を通覽して見るに、第2期及び第3期に於ては、兩群の死亡率は互に相伯仲し、其の間に著しい相違は認められないが、小麥+肝油群は、初期に於て小麥群よりも多くのラツテが死亡した爲、従つて後期まで残存するラツテの數が小麥群より少くなり、其の結果として、後期に於ける死亡率が小麥群よりも低くなつて居る。反之、小麥群に於ては初期に於て死亡したラツテが、小麥+肝油群よりも少い爲、後期まで残存するラツテの數が小麥+肝油群よりも多くなり、其の結果として、後期に於ける死亡率が小麥+肝油群よりも高くなつて居る。故に此の成績から觀るに、ラツテの死亡率に於ては、小麥群の方が小麥+肝油群よりも其の成績良好と言はねばならぬ。

發育栄養狀態： 本實驗に於けるラツテの發育栄養狀態は比較的良好であるが、之を小麥群の夫れに比較するに猶幾分の遜色有る事が認められる。即ち本實驗に於ける 280 日飼養 (*o-Amidoazotoluol* の投與 280 日) の場合の成績は、之を本論第1編の小麥群の成績に比較し、本實驗に於ける長期飼養 (*o-Amidoazotoluol* の投與 388 日) の場合の成績は、之を本論第2編の小麥群の夫れに比較し、又本實驗に於ける *o-Amidoazotoluol* の投與を 180 日間に限定する長期飼養の場合の成績は、之を本論第3編の小麥群の成績に比較したのであるが、之を曲線を以て圖示するに、第1圖、第2圖及び第3圖の如くである。今之等の圖表を見るに、小麥+肝油群は、280 日飼養 (*o-Amidoazotoluol* の投與 280 日) の場合でも、亦長期飼養 (*o-Amidoazotoluol* の投與 388 日) の場合でも、何れも體重曲線が小麥群より下位になつて居り、而も兩者の間に相當の開きが存在して居る。處が *o-Amidoazotoluol* の投與を 180 日間に限定する長期飼養の場合に於ては、大體に於て之が逆の形となつて居る(第3圖参照)。然しそはラツテの雌雄の關係が大きな影響を齎して居る事を見逃してはならない。元來ラツテは、哺乳期を経過して成長期乃至は成熟期になるに、雄は雌に比較して其の體重が重いものである。然るに小麥群は雄 3 匹、雌 5 匹であるのに、小麥+肝油群は 2 匹とも

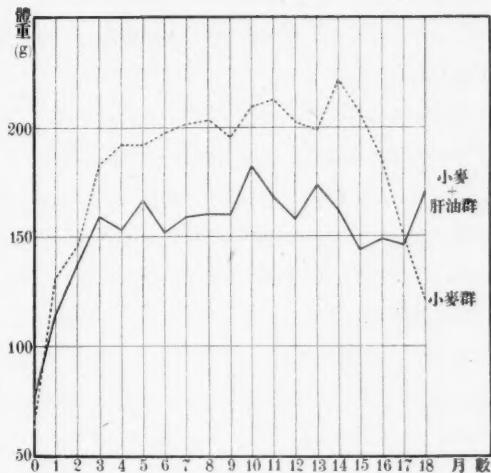
第1圖 體重曲線

280日飼養(*o*-Amidoazotoluol の投與
280日)の場合



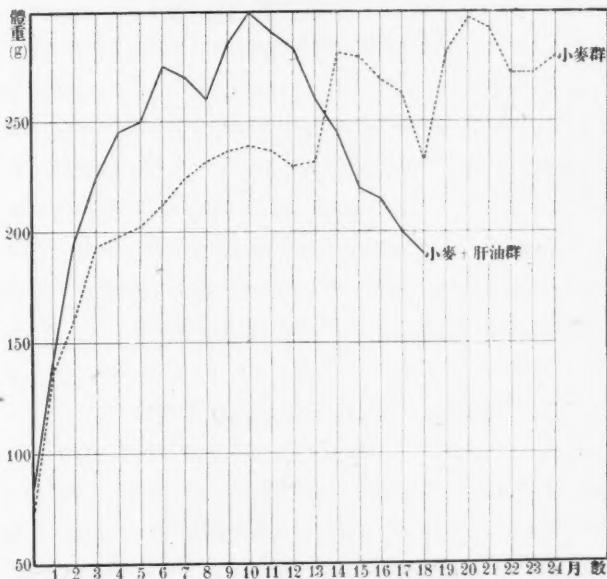
第2圖 體重曲線

長期飼養(*o*-Amidoazotoluol の投與 388日)
の場合



第3圖 體重曲線

長期飼養(*o*-Amidoazotoluol の投與 180日)の場合



雄であるから小麥+肝油群の體重曲線が特に高位を占める様になつた譯で、若し小麥+肝油群にも雌が存在したならば、兩者の間に於ける體重曲線の開きはもつて縮少されるものと考へられる。故に o-Amidoazotoluol の投與を 180 日間に限定する長期飼養の場合に於ては、本實驗の成績を小麥群の夫れに比較して云々する事は出來ない譯である。

生存日數： 本實驗に於ける 280 日飼養 (o-Amidoazotoluol の投與 280 日) の場合は飼養日數 280 日に到達した時未だ生存中のラツテ (6 例) を屠殺解剖したのであるが、假令屠殺したにもせよ此の場合に於けるラツテの生存日數は、何れも飼養開始後 280 日となる譯である。本實驗に於ける長期飼養 (o-Amidoazotoluol の投與 388 日) の場合は、ラツテ (6 例) が死亡するまで之を飼養したのであるが、其の生存日數は夫れ夫れ飼養開始後、Nr. 1 が 287 日、Nr. 2 が 406 日、Nr. 3 が 475 日、Nr. 4 が 526 日、Nr. 5 が 534 日、Nr. 6 が 551 日である。處が小麥群に於ては 5 例のラツテが存在するのであるが、之等のラツテは夫れ夫れ飼養開始後、Nr. 1 が 293 日、Nr. 2 が 408 日、Nr. 3 が 434 日、Nr. 4 が 505 日、Nr. 5 が 550 日の命數を保持して居る。今、此の兩者を比較して見るに、小麥+肝油群のラツテの生存日數は、小麥群の夫れに殆ど同様である (第 4 圖、第 5 圖参照)。

本實驗に於ける o-Amidoazotoluol の投與期間を 180 日に限定する長期飼養の場合に於ても、ラツテ (2 例) が死亡するまで之を飼養したのであるが、之等のラツテは何れも飼養開始後 555 日間生存して居る (第 4 圖参照)。[尤も、此の群には最初 5 例のラツテが存在したのであるが、其の中 3 例は比較的早期に死亡し (勿論何れも肝癌發生を認めない) 残りの 2 例だけが比較的長期間生存して居た爲、本實驗に於ては此の 2 例だけを取扱つて居る譯である]處が小麥群に於ては飼養開始後 555 日以上生存して居るもののが 7 例に達し (第 5 圖参照)、而も之等の生存日數は多くは小麥+肝油群の夫れよりも遙かに多い爲、小麥+肝油群は小麥群よりも一見成績不良の様に思はれる。然し此の場合は、小麥+肝油群の成績と小麥群の夫れを比較する事は出來ない。夫れは次の様な理由に據るものである。

先づ第 1 の理由は、最初實驗に使用したラツテの數が小麥+肝油群の方が小麥群よりも遙かに少い爲、其の結果として實驗の最後に於ける小麥+肝油群のラツテ數が小麥群の夫れよりも少くなり、從つて、之を小麥群の夫れと比較する事が出來ない事である。即ち o-Amidoazotoluol の使用期間を 180 日に限定する長期飼養の場合、小麥群は最初 50 匹のラツテを以て實驗を開始し、飼養日數 181 日に到達した時 24 匹のラ

ツテが存在したのであるが、小麥+肝油群に於ては、飼養日數 181 日に到達した時 5 匹のラツテを此の實驗に振當てたのであるから、實驗に使用したラツテ數に於て既に小麥+肝油群と小麥群に差異がある。故に特別な原因が存在しない限り、實驗の最後に於ても、小麥群に多數のラツテが殘存し小麥+肝油群が少數となるのは蓋し當然の事であるから、小麥+肝油群のラツテ數が少いからと言つて、之を小麥群に比較して云々する事は出來ない譯である。第 2 の理由は、小麥+肝油群のラツテが死亡した原因が小麥群の夫れに異なる爲、小麥+肝油群の生存日數は之を小麥群の夫れに比較する事が出來ない事である。即ち小麥+肝油群のラツテ 2 匹は、之を同一の箱の中で飼養して居たのであるが、雙方とも皮膚にダニが寄生した爲、之を驅除する目的で之等のラツテに驅蟲剤(アース)を噴霧した。すると其の翌日 2 匹とも頭を並べて死亡して居た。此の 2 匹のラツテは尤も體重は減少して居たけれども、左程まで衰弱して居た譯ではないから、若し驅蟲剤を使用しなかつたなれば、もつと長く生存して居たものと考へられる。故に小麥+肝油群の生存日數は、之を小麥群の夫れに比較して云々する事は出來ない譯である。

内臓所見：A. **肝臓所見：**280 日飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與 280 日)の場合には、6 例とも全部肝癌發生を認めない。肝臓の表面は何れも平滑で、肉眼的にも何等の變化を認めない。組織検査を行つて見ても、肝癌はもとより、腺腫乃至は結節性肥大等の像も検出する事は出來ない。肝臓重量は略々正常の夫れに近似して居る(第 4 圖、第 6 圖参照)。

長期飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與 388 日)の場合には 6 例のラツテが存在するのであるが、其の中、Nr. 1, Nr. 2, Nr. 3, Nr. 4 は何れも肝癌發生を認めない。Nr. 5 も肝臓の一部に癌腫に近い組織像を呈する部分を認めるけれども、然しあだ完全に癌化しては居ない状態である。處が Nr. 6 には確實に肝癌が發生して居る。然し癌化の程度は比較的輕度で僅かに 2 箇の癌結節を發生して居るに過ぎない。而して肝臓重量は(發癌したものと除く)略々正常の肝重量に近似して居る(第 4 圖、第 6 圖参照)。

o-Amidoazotoluol の投與期間を 180 日と限定する長期飼養の場合に於ては、2 例の中 1 例には肝癌發生を認めないが、他の 1 例(Nr. 2)は發癌して居る。然しそも亦癌化の程度は比較的輕度で、1 箇の比較的小さい癌結節が發生して居るに過ぎない。組織検査を行つて見るに、癌化して居るとは言へ、猶腺腫に近い組織像を呈して居る。肝臓重量は Nr. 2 は幾分大であるけれども、Nr. 1 は殆ど正常である(第 4 圖、第

6圖参照)。

第4圖 飼養日數及び肝臓重量(小麥+肝油群)

o-Amidoazo-toluol の投與日數	動物番號	飼養日數	體性重 (g)	肝臓重量									
				2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
280	1	280	♀	220									
	2	280	♀	170									
	3	280	♀	70									
	4	280	♀	140									
	5	280	♂	130									
	6	280	♂	105									
388	1	287	♂	130									
	2	406	♀	130									
	3	475	♀	70									
	4	526	♀	120									
	5	534	♂	110									
	6	551	♀	170									
180	1	555	♂	155									
	2	555	♂	170									

—発癌した肝臓 —発癌しない肝臓

第5圖 飼養日數及び肝臓重量(小麥群)

o-Amidoazo-toluol の投與日數	動物番號	飼養日數	體性重 (g)	肝臓重量									
				2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
280	1	280	♂	130									
	2	280	♂	230									
	3	280	♂	300									
	4	280	♀	130									
	5	280	♀	150									
	6	280	♀	200									
388	1	293	♂	125									
	2	403	♂	110									
	3	434	♂	160									
	4	505	♂	170									
	5	550	♀	120									
180	1	411	♂	140									
	2	561	♂	190									
	3	568	♂	160									
	4	705	♀	170									
	5	717	♀	300									
	6	742	♂	200									
	7	756	♂	290									
	8	756	♀	260									

—発癌した肝臓 —発癌しない肝臓

以上三つの場合の成績を之に該當する小麥群の夫れに比較して見るミ、大體次の様である(第4圖、第5圖参照)。

先づ第1に280日飼養(o-Amidoazotoluolの投與280日)の場合を比較するミ、小麥+肝油群(6例)に於ても、亦小麥群(6例)に於ても、雙方とも全部肝癌發生を認めない。勿論小麥群のラツテの肝臓重量は一般に大であるけれども、其の他の點に於ては、肉眼的所見に於ても亦組織學的所見に於ても兩者の間に殆ど差異が認められない。

次に、長期飼養(o-Amidoazotoluolの投與388日)の場合を比較するミ、兩群の間

に比較的明らかな差異が現れて居る。即ち、小麥+肝油群に於ては、6例中1例(飼養日數551日)だけが発癌して居るのであるが、而も、其の程度は比較的軽度で、僅かに2箇の癌結節を発生したに止り、肝臓重量も13gに過ぎない。然るに、小麥群に於ては5例の中3例に肝癌発生を認め、其の中1例は飼養日數403日で既に発癌して居る。而も、発癌したものの中には癌化の程度が相當強度なものが存在し、Nr.4のラツテの肝臓の如きは癌化の程度が相當強度で、肝臓重量も24gに達して居る。

第3に、o-Amidoazotoluolの投與期間を180日と限定する長期飼養の場合を比較するご、小麥+肝油群に於ては、2例の中1例に肝癌発生を認め、他の1例には之を認めなかつたのであるが、小麥群に於ては、8例の中3例に肝癌発生を認め、他の5例には之を認めなかつたのであるから、小麥+肝油群の発癌率は、小麥群の夫れよりも高くなる譯である。然し小麥+肝油群は僅か2例に過ぎないから、その発癌率は大凡意味の少いもので、若し、小麥+肝油群に多數のラツテが存在したなれば、此の割合はさう變化するかも解らない。故に此の場合に於ては兩者の発癌率を比較云々する事は出来ない譯である。尙、発癌した肝臓の癌化の程度を觀るご、小麥+肝油群(Nr.2)に於ては、癌化の程度が比較的軽度で、僅かに1箇の小さい癌結節を発生したに止り、肝重量も僅々10.5gに過ぎない。然るに小麥群に於ては、癌化の程度が一般により強度で、小麥+肝油群のNr.2のラツテと殆ど同時期に死亡したNr.2のラツテの肝臓でも、癌化の程度は相當強度で肝重量も15gに達して居る。此の事實から觀るご、小麥+肝油群の方が小麥群よりも肝癌発生の抑制される事が強い様であるが、然し此の事に就ても小麥+肝油群の實驗例が少い爲、餘り意義を附して考へる事は出来ない。

以上比較した處を要約するご、o-Amidoazotoluolの投與期間を180日と限定する長期飼養の場合に於ては、小麥+肝油群の成績と小麥群の夫れを比較する事は出来ないが、280日飼養(o-Amidoazotoluolの投與280日)の場合に於ては、先づ互角の成績と觀る事が出来る。處が、長期飼養(o-Amidoazotoluolの投與388日)の場合に於ては、小麥+肝油群の成績は小麥群よりも確に良好である。

B. 肝臓以外の内臓所見: 肝臓以外の内臓では、脳、脳下垂體、心臓、肺臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、腸、睾丸、卵巣、甲状腺等を検査したのであるが、何れも著明な變化は認められない。殊に肝臓癌の轉移を起したものには1例も遭遇しないのである。尙脳、脾臓、腎臓、睾丸等の重量及び卵巣の大きさも測定したのであるが、之等諸臓器の重量及び大きさは、大體に於て體重と平行關係を示して居る。尙参考までに之等諸臓器の重量及び大きさを、本論第1編、第2編、第3編の場合の夫れと比較し

て次に表示して置く(第2表、第3表、第4表参照。之等の表中、腎臓及び睾丸に於ては、其の左右の平均値を記入し、卵巢に於ては先づ左右別々に其の長径と短径の和を求めて之を2分し、更に此の左右の値の和を求め、次に之を2分したものと記入した)。

脳底部に発生した神經膠腫: 長期飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與388日)の場合に於けるNr. 2 のラットは、飼養日數406日で死亡したのであるが、其の10日前から衰弱が著明となり、死亡する數日前からは運動する事も出来ず、又、食餌を攝る事

第2表 280日飼養(*o-Amidoazotoluol* の投與280日)の場合

実験群	動物番號	飼養日數	性	體重(g)	脳(g)	脾臓(g)	腎臓(g)	睾丸(g)	卵巢(mm)
小麥 + 肝油群	1	280	♀	220	1.9	0.8	1		7
	2	280	♀	170	1.7	1	0.8		8
	3	280	♀	70	1.3	0.2	0.5		2.5
	4	280	♀	140	1.5	0.6	0.6		3.5
	5	280	♂	130	1.5	1.2	0.7	0.5	
	6	280	♂	105	1.5	0.8	0.5	0.7	
小麥群	1	280	♂	130	1.4	0.5	0.5	0.8	
	2	280	♂	230	1.6	1.3	0.9	1.8	
	3	280	♂	300	1.7	1.2	1.2	1.8	
	4	280	♀	130	1.4	1	0.6		4.5
	5	280	♀	150	1.6	0.7	0.7		3.5
	6	280	♀	200	1.7	1.4	0.9		4.5
玄米群	1	280	♂	190	1.8	0.7	1	1.5	
	2	280	♀	190	1.8	1.3	0.8		5.5
	3	280	♀	130	1.7	0.5	0.5		4.5
	4	280	♀	140	1.5	0.8	0.6		5.5
	5	280	♀	160	1.6	0.9	0.7		5.5
	6	280	♀	180	1.7	0.8	0.8		5.5
白米 + 酵母群	1	280	♀	130	1.5	0.9	0.6		4.5
	2	280	♀	150	1.5	0.8	0.6		3.5
	3	280	♀	150	1.5	0.7	0.6		3.5
	4	280	♀	120	1.5	0.6	0.6		4.5
	5	280	♀	130	1.6	0.5	0.6		4.5
	6	280	♀	120	1.6	0.8	0.7		4.5
白米群	1	280	♂	170	1.6	1.1	0.9	1.1	
	2	280	♂	190	1.8	1.3	0.8	1.3	
	3	280	♀	120	1.4	0.8	0.6		4.5
	4	280	♀	100	1.6	0.7	0.5		3.5
	5	280	♀	130	1.5	0.6	0.6		3.5
	6	280	♀	130	1.5	1.2	0.7		5.5

肉太の数字は肝癌を発生したもので、肉細の数字は肝癌を発生しないもの。

第3表 長期飼養(o-Amidoazotoluol の投與 388 日)の場合

実験群	動物番號	飼養日數	性	體重(g)	臍(g)	脾臍(g)	腎臍(g)	睾丸(g)	卵巣(mm)
小麥 + 肝油群	1	287	♂	130	2	1	0.9	1.0	
	2	406	♀	130	2.3	0.4	0.7		3.5
	3	475	♀	70	1.4	0.3	0.5		2.5
	4	526	♀	120	1.9	1	0.6		4
	5	534	♂	110	1.7	0.2	0.7	0.7	
	6	551	♀	170	2	1.3	0.8		6
小麥群	1	293	♂	125	1.8	0.6	0.7	0.2	
	2	403	♂	110	1.9	0.9	0.8	0.4	
	3	434	♀	160	1.9	0.5	1		4.5
	4	505	♂	170	2	0.7	1	0.5	
	5	550	♀	120	1.7	0.5	0.5		4
玄米群	1	414	♀	150	1.8	0.4	0.8		3
	2	488	♀	125	1.7	0.9	1		3.5
	3	545	♀	160	1.7	0.9	0.7		6
白米 + 酵母群	1	513	♀	125	1.9	0.7	0.7		4

肉太の数字は肝癌を発生したもので、肉細の数字は肝癌を発生しないもの。

第4表 長期飼養(o-Amidoazotoluol の投與 180 日)の場合

実験群	動物番號	飼養日數	性	體重(g)	臍(g)	脾臍(g)	腎臍(g)	睾丸(g)	卵巣(mm)
小麥 + 肝油群	1	555	♂	155	1.9	0.4	1	1	
	2	555	♂	170	2	0.7	1	0.6	
小麥群	1	411	♂	140	1.8	1	0.8	0.5	
	2	561	♂	190	2	0.5	1.1	1.5	
	3	568	♀	140	1.7	0.3	0.9		3.5
	4	705	♀	170	2.1	0.8	1.2		4.5
	5	717	♀	300	1.9	0.5	1.3		3
	6	742	♂	200	2.1	0.7	1.4	0.8	
	7	750	♀	290	2	0.7	1.2		2.5
	8	756	♀	260	2	0.9	1.4		6.5
玄米群	1	440	♂	110	1.7	1.3	1.3	0.4	
	2	480	♀	180	1.9	1	1.1		4
	3	488	♂	140	1.8	0.6	0.8	0.6	
	4	649	♂	220	1.9	2.7	1.6	1.2	
	5	672	♀	170	1.8	0.8	1.1		5
	6	695	♀	150	1.9	0.5	1		3.5

肉太の数字は肝癌を発生したもので、肉細の数字は肝癌を発生しないもの。

も出来ぬ様になつて居た。死後之を解剖して見るに、脳底部に直徑大凡 0.8 cm を有する略々圓形の腫瘍が發生して居るのを認めた。此の腫瘍は、淡褐色を呈し、硬度は比較的軟である。組織検査を行つて見るに、神經膠腫の組織像を呈して居る。

尙、此の事に就いては、別に今少し精しく記述する考であるから、本編に於ては唯其の概要を記述するに止めて置く。

考 按

肝癌発生に及ぼす肝油の影響: ラツテに o-Amidoazotoluol 肝癌を発生させる場合、小麥に一定の割合に肝油を添加したものを主食として投與した場合は、肝油を添加しない小麥を主食とした場合よりも、より強く肝癌發生が抑制される事は本實驗の成績に據つて明らかなる處である。従つて肝油に或程度の o-Amidoazotoluol 肝癌發生を抑制する作用の存在する事は充分首肯出来る。然し肝油の中に含まれて居る如何なる成分が此の發癌抑制作用を呈するかと言ふ事になることは問題である。尤も石原は(1939 及び 1940)の癌研究會學術集談會に於て、「發癌劑として o-Amidoazotoluol を使用した場合でも、亦 Butter yellow を使用した場合でも、多量のビタミン A を補給するに、ラツテに於ける肝癌發生が抑制される。然しふタミン D には此の作用が存在しない」と報告して居るが、然し石原がビタミン A を給與する目的で使用したのはやはり肝油で、肝油の中にはビタミン A、ビタミン D 以外にも種々の成分が含有されて居るのであるから、此の發癌抑制作用を呈する物質を直ちにビタミン A と断定する事は出來ない譯である。然らば如何なる成分が此の發癌抑制作用を呈するのであるか。肝油の中に含有されて居る既知の成分であるか、又未知の分野に屬するものであるか、夫れども二つ以上の成分の複合作用に因るものであるか、目下の處全然不明の域を脱して居ない。

肝油の使用分量とラツテの死亡率: 肝油の使用分量には一定の限度があり、此の事に就ては既に川上、山本の報告がある。即ち「餌肝油が其の薬效を著すのは其の少量を使用した場合の事で、少しく其の量が増加すると寧ろ有害に作用するものである。而して其の限度は食餌 100g に對し肝油 2g で、此の限度を超過すると既に有害に作用するものである」と報告して居る。すると余の實驗の場合、實驗初期に於ては、小麥 100 g に對して肝油略々 2.6 g の割合となつて居るから、此の分量では既に肝油の給與過剰となる譯である。今余の實驗成績を観ると(第 1 表参照)、初期(飼養開始の日から 70 日まで)に於ては、小麥 100 g に對し肝油略々 2.6 g を添加したものを飼料として居るのであるが、初期に於ける小麥 + 肝油群の死亡率著しく高く、60% の高率を示して居る。之を同期間に於ける小麥群の死亡率 47% に比較しても、其の間に相當の開

きの存在する事が認められる。すると小麥+肝油群と小麥群との間に存在する死亡率の開きは、肝油の給與過剰に因つて生じたものと考へられる。勿論此の相違を直ちに肝油の給與過剰のみに歸着させる事は出来ないかも知れぬが、然し實驗には兩群とも同一系統のラツテを使用し、且雙方とも同一の飼料を投與し、而も兩者平行して實驗を途行しながら、唯、肝油を投與するしないだけの相違に因つて、兩者の間に斯様な差異を生じた以上、之はどうしても肝油給與の影響に因るものと考へねばならぬ。而も、肝油が、其の少量を使用した場合は有效無害で、唯其の給與過剰の場合だけ有害に作用する事を考へる時は、初期に於て兩者の間に生じた死亡率の開きは、やはり肝油の給與過剰に因るものと看做すのが至當であらう。處が第2期(71日から180日まで)に於ては、小麥100gに對して肝油1gを添加したものを、又、第3期(181日から280日まで)に於ては、小麥100gに對して肝油0.2gを添加したものと飼料としたのであるが、第2期に於ける小麥+肝油群の死亡率は3.3%で、同期に於ける小麥群の死亡率4%と餘り大差がない。又、第3期に於ける小麥+肝油群の死亡率は10%で、之も亦同期に於ける小麥群の死亡率9%と殆ど大差がない。故に之等の期間内に於ては、肝油がラツテの死亡率に對して何等認むべき影響を與へて居ない事が解る。尙後期(281日から實驗終了まで)に於ても、小麥100gに對して肝油0.2gを添加したものを飼料として居るのであるが、此の期間内に於ては、肝油給與の影響が有るにもせよ無いにもせよ、初期、第2期、第3期に死亡した残りのラツテ全部が死亡する譯であるから、此の期間の死亡率には、此の期間内に於ける肝油給與のラツテに及ぼす影響は現れて居ない。然し、後期に於ける此の死亡率は、初期、第2期、第3期の成績の結果に相當するもので、小麥+肝油群に於ては、之等の期間に死亡したラツテの總數が小麥群の夫れよりも多い爲、從つて後期まで殘存するラツテの數が小麥群の夫れよりも少くなり、其の結果として、後期に於ける死亡率が小麥群よりも低くなり、反之、小麥群に於ては、初期、第2期、第3期に於て死亡したラツテの總數が小麥群の夫れよりも少い爲、後期まで殘存するラツテの數が小麥+肝油の夫れよりも多くなり、其の結果として、後期に於ける死亡率が小麥+肝油群よりも高くなつて居る譯である。

以上考按した處に據るご、小麥100gに對して肝油略々2.6gを添加したものを投與した場合は、肝油を添加しない小麥を投與した場合よりも、ラツテの死亡率が高くなるが、小麥100gに對して1g或は0.2gの肝油を添加したものを投與した場合は、ラツテの死亡率の上には何等肝油の影響が現れて來ないものと觀る事が出来る。

ラツテの生存日數と肝油の關係： 以上の實驗で明らかな様に本實驗の場合に於ては、ラツテの生存日數に對する肝油給與の影響は、280日飼養(o-Amidoazotoluolの投與280日)の場合には之は問題にならない。又 o-Amidoazotoluol の投與期間を180日と限定する長期飼養の場合も亦之を斷言する事は出來ない。然し長期飼養(o-Amidoazotoluol の投與388日)の場合の成績から觀ると、ラツテの生存日數に對しては肝油給與の影響は先づ無いものと觀て支障がなからう。

ラツテの發育栄養狀態と肝油の關係 以上の實驗成績に見られる様に、小麥+肝油群に於けるラツテの發育栄養狀態は、場合に依つては小麥群に劣り、又、場合に依つては小麥群に勝つて居るが、然し、全體を通じて之を觀ると、やはり小麥+肝油群の方が小麥群よりも劣つて居る。然らば何故斯様な優劣が生じたか。本實驗に於ては、之を肝油の作用に歸著せらる事は困難である。結局は今後の研究に俟つより外仕方あるまい。

結論

1. 肝油添加の小麥食を投與した場合は、肝油を添加しない小麥食を投與した場合に比較して、ラツテに於ける o-Amidoazotoluol 肝癌發生がより強度に抑制される。
2. 此の實驗成績から觀て、肝油には或程度の o-Amidoazotoluol 肝癌發生を抑制する作用が存在するものと考へられる。
3. 肝油は其の少量(小麥 100 g に對し、實驗初期の 70 日間は肝油略々 2.6 g, 71 日から 180 日までは肝油 1 g, 181 日から實驗終了までは肝油 0.2 g)を使用した場合、既にラツテに於ける o-Amidoazotoluol 肝癌發生を抑制する。
4. 然し肝油の中の如何なる成分が此の作用を呈するかと言ふ事は不明である。
5. 小麥 100 g に肝油略々 2.6 g を添加したものと飼料とした場合は、ラツテの死亡率が高くなる。
6. 然し本實驗の場合に於ては、小麥 100 g に略々 2.6 g, 1 g, 0.2 g の肝油を添加したものを投與しても、ラツテに於ける發育栄養狀態或は生存日數には肝油給與の影響は認められない。

擱筆するに及び御懇篤な御指導、御校閲を賜はつた杉山教授に深謝すると同時に、本實驗を遂行するに當り、種々御親切に御指導下さつた天野助教授に對し、厚く謝意を表する次第である。

文獻

(最終編の末尾に記載する)。



Nr. 1. (10.8 g)



Nr. 2. (11.7 g)



Nr. 3. (4.5 g)



Nr. 4. (7.5 g)



Nr. 5. (9.5 g)



Nr. 6. (6.5 g)

Leberbefunde beim Experiment 1



Nr. 1. (10.5 g)



Nr. 2. (5.5 g)



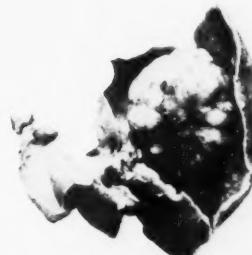
Nr. 3. (4.8 g)



Nr. 4. (9 g)



Nr. 5. (7.5 g)

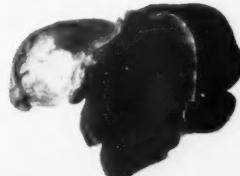


Nr. 6. (13 g)

Leberbefunde beim Experiment 2.

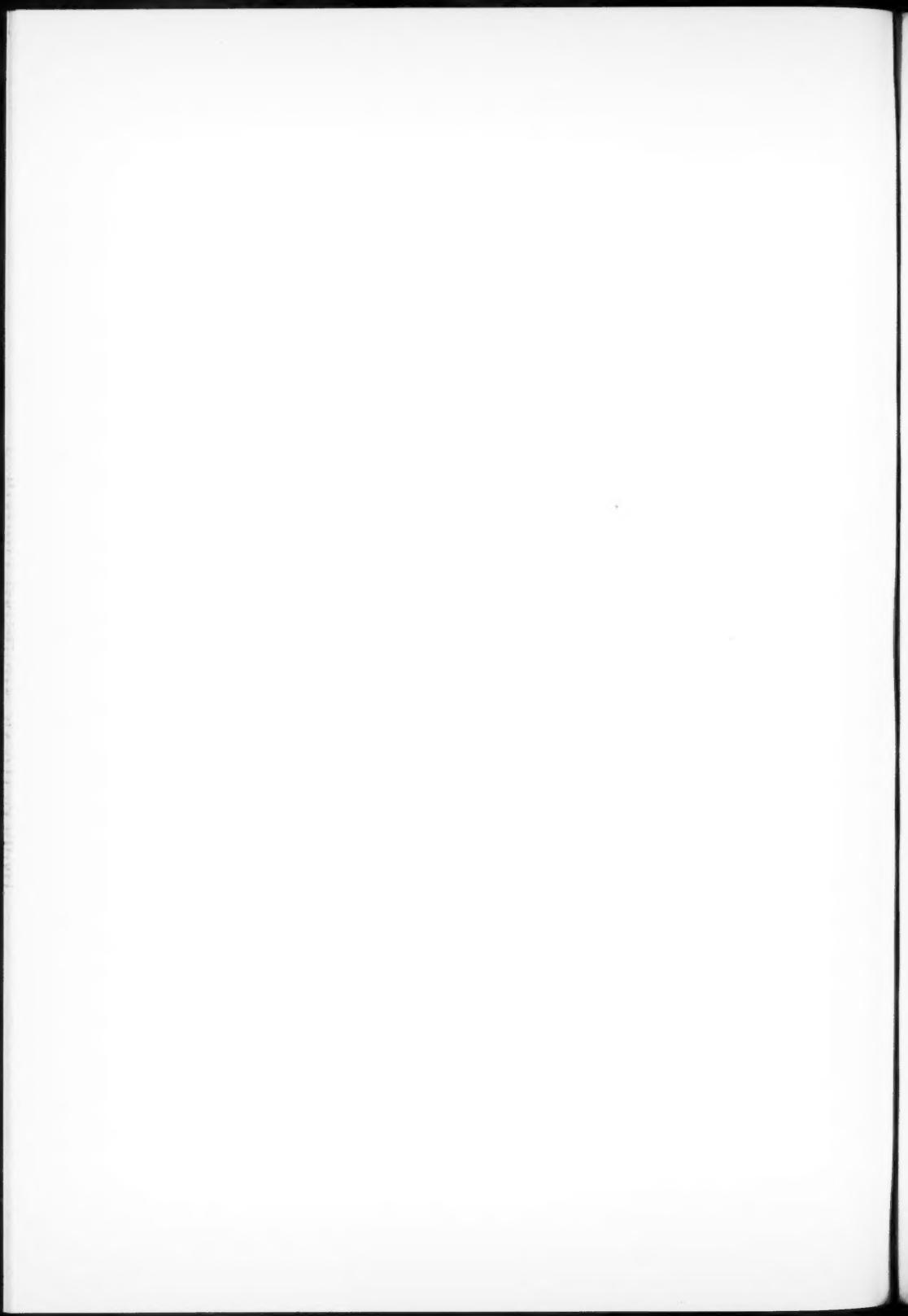


Nr. 1. (6.5 g)



Nr. 2. (10.5 g)

Leberbefunde beim Experiment 3.



Auszug

**Experimentelle Leberkarzinomentstehung und Getreide
(IV. Mitteilung)**

Experimentelle Leberkarzinomentstehung und Lebertran.

Von

Tokuhiro Ando

(Pathologisches Institut der Kaiserlichen Universität Kyoto.

Leiter: Prof. S. Sugiyama)

(Mit TAFEL XXIX)

(Eingegangen am 16. April 1941)

In der vorliegenden Arbeit wurde einer Serie von Ratten Weizen, vermengt mit Lebertran, worin o-Amidoazotoluol in einem bestimmten Verhältnis gelöst war, gegeben, um die Einwirkung des Lebertrans auf die o-Amidoazotoluol-Wirkung, die sich in der Leberkarzinombildung äussert, beobachten zu können. Die erzielten Ergebnisse wurden dann denjenigen gegenübergestellt, welche man bei den mit Weizen und o-Amidoazotoluol aber ohne Beimengung von Lebertran gefütterten Ratten (Weizen-Gruppe) gewonnen hatte.

Die Weizen-Lebertran-Gruppe umfasst insgesamt 60 Ratten. Bei den Tieren der obengenannten Weizen-Gruppe handelt es sich jedoch um dieselben Ratten, die ich schon in der vorangehenden I., II. und III. Mitteilung ebenfalls als „Weizen-Gruppe“ bezeichnet habe. Die Tiere der genannten beiden Gruppen sind von einem und demselben Stamm und wurden fast gleichzeitig zum Versuche herangezogen, und zwar bediente ich mich der letzteren zur Kontrolle.

Hinzugesetzt wurde 25 g o-Amidoazotoluol mit 500 g Lebertran. Diese o-Amidoazotoluol-Lebertranlösung mengte man dem Weizen im Verhältnis von 27 g : 1 kg bei und gab danach die Mischung obigen 60 Ratten. Da aber die Letalität bei diesen Ratten im Verlauf von 70 Tagen nach Beginn des Experiments, verglichen mit der der Kontrolltiere, auffallend hoch war, legte ich mir die Frage vor, ob dies nicht etwa durch eine Überdosierung des Lebertrans bewirkt sei. Um hier Klarheit zu schaffen, setzte ich die Dose des Lebertrans vom 71. Tage an herab. Das heisst, 25 g o-Amidoazotoluol wurde zuerst nicht mit Lebertran, sondern mit 500 g Olivenöl ver-

setzt, dann wurde zu dieser o-Amidoazotoluol-Olivenöllösung 10 g Lebertran hinzugegetan. Diese Mischlösung wurde dann dem Weizen im Verhältnis von 27 g : 1 kg beigemischt und den übrigen Ratten 110 Tage lang gegeben. Hierbei war zwar eine Erniedrigung der Letalität der Tiere nachweisbar, doch blieben sie ihrem Gewicht nach noch ziemlich auffallend zurück, was ich ebenfalls auf eine Überdosierung des Lebertrans zurückführen musste. Also wurde die Lebertrandosis vom 181. Tage nach Beginn des Experiments an weiter herabgesetzt. Geschätzt auf Grund der für Menschen wirksamen Lebertrandosis setzte man demzufolge 2 g Lebertran der 27 g o-Amidoazotoluol-Olivenöllösung hinzu und mengte danach diese Mischlösung dem Weizen im Verhältnis von 27 g : 1 kg bei. Es trat jedoch hierbei keine bemerkenswerte Veränderung des Gewichts auf, die auf eine raschere Entwicklung des Tieres hätte schliessen lassen, sodass über eine etwaige Beziehung zwischen der Dosierung des Lebertrans und der Gewichtszunahme sich einstweilen noch nichts Genaueres sagen lässt.

In der vorliegenden Versuchsreihe starben 38 Ratten schon im Frühstadium, d. h. im Verlaufe von 70 Tagen nach Beginn des Experiments. Von den übrigen 22 wurden 5 beliebige Ratten ausgewählt, denen Weizen vermengt mit der Lebertran-Olivenöllösung (2 g : 27 g) im Verhältnis von 1 kg : 27 g, aber ohne Hinzugabe von o-Amidoazotoluol, gegeben wurde. Mit diesem Futter wurden die Tiere bis zum Tode gefüttert, in der Erwartung, die Entstehung oder Entwicklung des Leberkarzinoms beobachten zu können. Aber auch hierbei gingen wieder 3 von den 5 Ratten zu früh ein, als dass man dessen Entstehung hätte nachweisen können. In dieser Versuchsserie konnte ich daher nur die Erfolge bei den übrig gebliebenen 2 Ratten beobachten (Experiment I, s. Tabelle 1).

Die übrigen 17 Ratten ausser den obengenannten 5 wurden mit Weizen, dem o-Amidoazotoluol-Olivenöl-Lebertranlösung beigemengt war, 110 Tage lang also 180 Tage nach Beginn des Experiments, ernährt. Während dieser Zeit gingen 5 von diesen Ratten ein und 12 blieben am Leben. Von den letzteren wählte ich nun 6 beliebige Ratten, tötete sie sofort und untersuchte den Zustand der Leberkarzinomentstehung bei ihnen (Experiment 2, s. Tabelle 1).

Die übrigen 6 Ratten bekamen das gleiche Futter weiter. Vom 389. Tage nach Beginn des Experiments an hörte man jedoch mit der Beimengung von o-Amidoazotoluol abermals auf, und es wurde den Tieren nur Weizen, gemischt allein mit der schon oben erwähnten Lebertran-Olivenöl-

Tabelle 1. Weizen-Lebertran-Gruppe

Zeitdauer der o-Amidoazotoluolgabe	Nr.	Zeitdauer d. Fütterung	♂ ♀	Körpergewicht (g)	Lebergewicht (g)
280	1	280	♀	220	10.8
	2	280	♀	170	11.7
	3	280	♀	70	4.5
	4	280	♀	140	7.3
	5	280	♂	130	9.5
	6	280	♂	105	6.5
388	1	287	♂	130	10.5
	2	406	♀	130	5.5
	3	475	♀	70	4.7
	4	526	♀	120	9
	5	534	♂	110	7.3
	6	551	♀	170	13
180	1	555	♂	155	6.5
	2	555	♂	170	10.5

Tabelle 2. Weizen-Gruppe

Zeitdauer der o-Amidoazotoluolgabe	Nr.	Zeitdauer d. Flitterung	♂ ♀	Körpergewicht (g)	Lebergewicht (g)
280	1	280	♂	130	7.5
	2	280	♂	230	18.5
	3	280	♂	300	18.5
	4	280	♀	130	8.5
	5	280	♀	150	13.7
	6	280	♀	200	18
388	1	293	♂	125	7.5
	2	403	♂	110	10.5
	3	434	♀	160	12.5
	4	505	♂	170	24
	5	550	♀	120	17
180	1	411	♂	140	8.5
	2	561	♂	190	15
	3	568	♀	140	7
	4	705	♀	170	24
	5	717	♀	300	11.5
	6	742	♂	200	7.5
	7	750	♀	290	8
	8	756	♀	260	22.5

Die fettgedruckten Ziffern zeigen die Fälle, bei denen die Leberkarzinombildung nachweisbar war.

lösung (2 g : 27 g) bis zum Tode gegeben (Experiment 3, s. Tabelle 1).

Die Ergebnisse dieser drei Arten von Experiment finden sich in Tabelle 1 zusammengestellt. Man vergleiche sie mit den bei den entsprechenden Kontrollgruppen gewonnenen, die in Tabelle 2 wiedergegeben sind. Wie man wohl aus obigen Tabellen zu ersehen vermag, ist die Häufigkeit der Karzinombildung bei Tieren der Weizen-Lebertran-Gruppe geringer als bei

denen der Kontrollgruppe. Auch die Befunde der karzinomatös veränderten Leber sind bei der ersteren weit leichter als bei der letzteren (vgl. Fig. 6).

Auf Grund obiger Tatsachen glaube ich schliessen zu dürfen:

- 1) Bei den mit Weizen ernährten Ratten übt der Lebertran eine hemmende Wirkung auf die unter dem Einflusse des o-Amidoazotoluols stattfindende Leberkarzinombildung.
 - 2) Der Lebertran scheint schon in kleinen Dosen verabreicht die genannte o-Amidoazotoluol-Wirkung beeinträchtigen zu können.
 - 3) Welcher Bestandteil des Lebertrans es ist, der diese hemmende Wirkung gegenüber der Leberkarzinombildung ausübt, lässt sich bis jetzt noch nicht sagen.
-

Effect of Gibberellin on Tissue Culture

By

Fumiko Fukuoka

(From the Laboratories of the Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo)

(PLATE XXX)

(Received for Publication April 1, 1941)

Gibberellin is the active substance produced by a fungus, *Gibberella Fujikuroi*, which induces the infected young rice-plants to overgrow without leading to the development of the grain.

This substance was recently separated as crystals by *Yabuta* and *Sumiki*¹⁾ of the Agricultural Faculty, Tokyo Imperial University.

According to *Yabuta* and *Hayashi*²⁾ it was by *Kurosawa* and *Shimada* that the characteristic pathological action of gibberellin was seen in plants other than Graminaceae. *Shimada*³⁾ compared the size of healthy and affected cells and found that the increase in the length of the cells alone may not positively determine the effect of gibberellin, but it has great deal to do with the overgrowing.

*Hayashi*⁴⁾ expressed the opinion that the gibberellin may accelerate the division of cells, and tested its effect on yeast as it is easy to observe the transformation and multiplication. In this experiment, however, he came to the conclusion that gibberellin has no effect on the transformation or increase in number of yeast cells. Thus he said that gibberellin acts only on higher plants but not on such lower plants as yeast.

With these facts on hand we considered it worth while to investigate the effect of gibberellin on the growth of animal tissues.

Experiment

The experiment was carried out with the aid of the usual method of tissue culture. Materials used for cultivation were small fragments of embryonal chicken heart removed from chicken embryos on the 9th day of incubation.

Medium consisted of two parts of distilled water containing gibberellin in different concentrations, mixed with 5 parts of chicken plasma.

The gibberellin crystals used were prepared by Prof. Yabuta and were designated gibberellin B. Control medium was comprised of two parts of distilled water mixed with 5 parts of chicken plasma. Embryo juice was not used in order to simplify the experimental condition. The plasma was prepared from heparinized blood.

All the cultures were incubated at 37°C for 5 days. They are then fixed and stained. By using camera lucida the size of the tissue was traced on a sheet of paper under the microscope, and the outlined area on the paper was measured by means of the planimeter. Then the average rate of growth was calculated for each culture.

The results of the experiment is shown in the following table:

		Number of cultures	Average area of original tissue fragment mm ²	Average total area after cultivation mm ²	Average growth area mm ²	Average growth ratio mm ²
Concentration of gibberellin	Control	31	5.8	25.7	19.9	3.4
	0.00056	9	4.8	22	17.2	3.5
	0.001	11	5.7	26.7	21	3.6
	0.01	13	7.1	30	22.9	3.2
	0.017	6	3.3	15.5	12.2	3.6
	0.037	21	2.9	13.4	10.5	3.6
	0.074	33	2.8	10.4	7.6	2.7

Concentration of gibberellin was expressed in mg in 100 cc of culture medium.

It is evident from the above figures that, with the exception of the possible slight inhibition at the highest concentration tested, gibberellin showed no effect on the growth of animal tissue in vitro.

Microscopical examinations of fixed and stained cultures demonstrated that the size and shape of the cells in the growth zone were entirely the same between gibberellin treated and control cultures. This fact is well illustrated in photomicrographs (Plate XXX, Figs. 1 and 2). It would be seen, therefore, that gibberellin not only fails to affect the proliferation of animal cells in vitro but also to induce any hypertrophy or atrophy of the individual cells. In both cases the growth of the tissue took place in the usual straight strands ("radial growth") as well as in anastomosing and entangled form ("reticular growth"), and the appearance of the early signs of degeneration was no more frequent among the treated cultures than among controls.

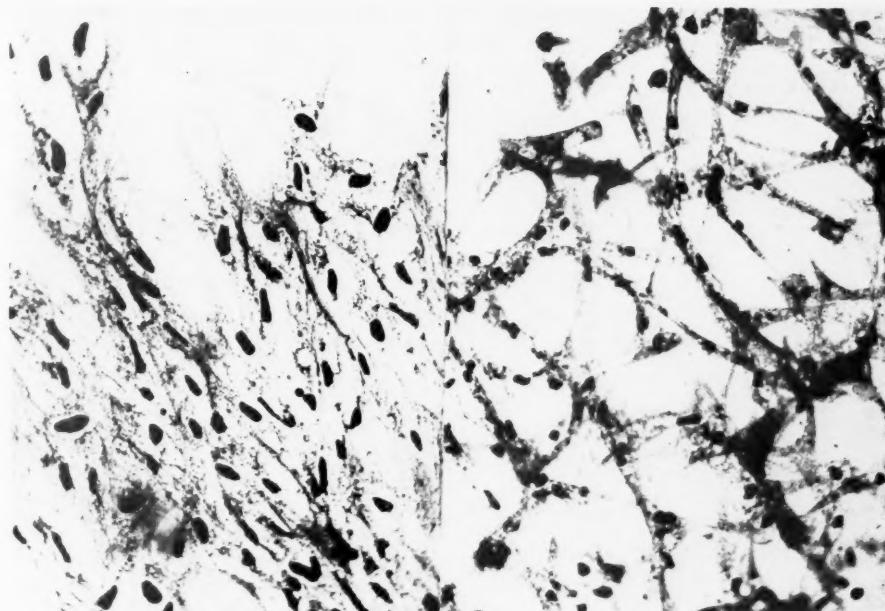


Fig. 1. Peripheral parts of cultures with the addition of gibberellin, showing "radial" (to the left) and "reticular" (right) forms of cellular growth. There is no abnormal enlargement of individual cells, as may be evident from comparison with control cultures shown below.

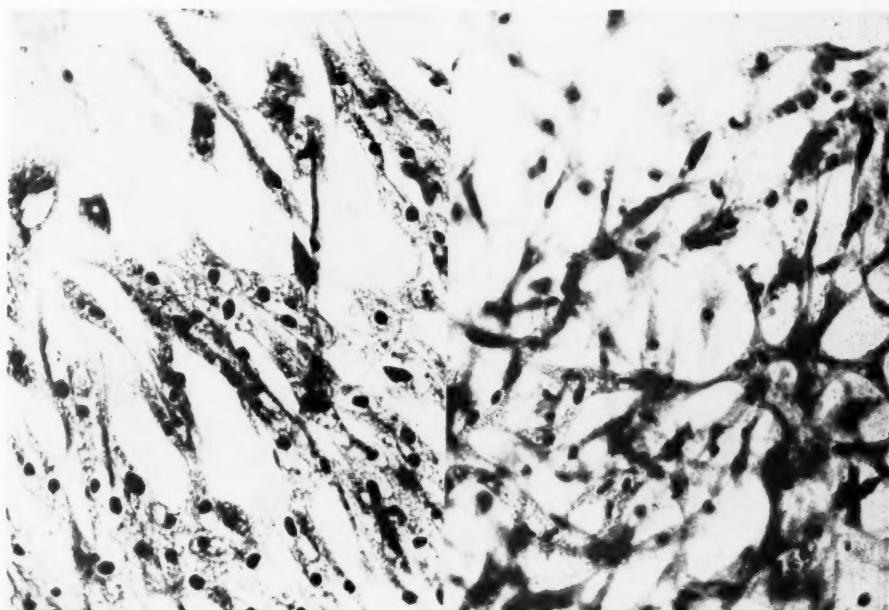
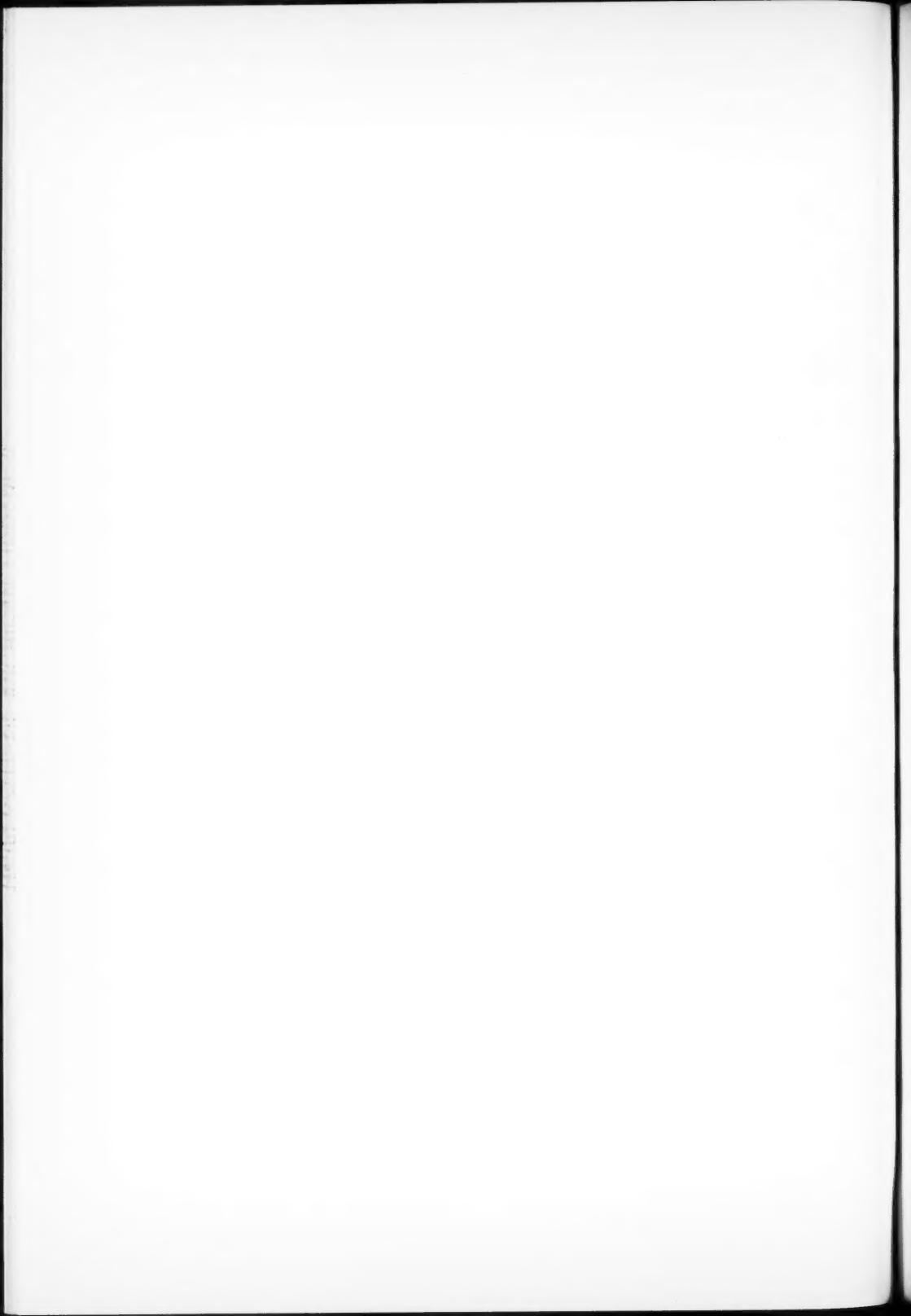


Fig. 2. Peripheral parts of control cultures, representing the two forms of growth as above.

Fumiko Fukuoka: Effect of Gibberellin on Tissue Culture.



Conclusion

There was no evidence of any action of gibberellin on the growth of animal tissue in vitro.

The sample of crystalline gibberellin used in this experiment was kindly supplied by Prof. T. Yabuta of the Faculty of Agriculture, Tokyo Imperial University, to whom my appreciation is due.

This experiment was conducted with the kind cooperation of Dr. Nakahara and Dr. Mori and herewith I express my hearty thanks to them.

Literature Cited

- 1) Yabuta, T. and Sumiki, Y., J. Agr. Hort., Vol. 15, 448(1940). 2) Yabuta, T. and Hayashi, T., J. Agr. Hort., Vol. 13, 21(1938). 3) Shimada, S., Trans. Sapporo Forest. Soc., Vol. 24, 170(1932). 4) Hayashi, T., J. Ag. Chem. Soc. Japan, Vol. 16, 385(1940).

要 旨

Gibberellin の組織培養に及ぼす影響

福岡文子

(癌研究所)

(圖版 XXX)

(昭和 16 年 4 月 1 日受付)

Gibberellin は稻馬鹿苗病菌の生産する同病持続の植物體のみを伸展せしめ結實に至らない所謂徒長現象を起す物質で、東大農學部戴田教授によつて近時結晶として分離されたものである。斯る特殊作用を有する物質の動物細胞に及ぼす影響を検索せり。

常法によつて鶏胚心臓の組織培養に種々の濃度の Gibberellin 溶液を添加せるも各培地に於ける組織増殖率並に増殖細胞の顯微鏡的所見に於て何等影響は認められなかつた。

Experimental Production of Liver Cirrhosis by Furfural Feeding*

By

Waro Nakahara and Kazuo Mori

(From the Laboratories of the Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo)

(With 18 Text-figures)

(Received for publication, April 1, 1940)

Introduction

In October, 1939, we made a preliminary announcement of our success in producing liver cirrhosis in rats by furfural feeding¹⁾. The original observation has since been repeatedly confirmed and extended by many further experiments, and it is now time that the main results of these experiments are reported in full.

The investigation which culminated in the experimental production of liver cirrhosis by furfural feeding was inaugurated with the hope of elucidating the peculiar prevalence of liver cancer in Japan and other Oriental countries. We suspected that the conditions of living, especially food and drink, might play a significant rôle in determining the high liver cancer incidence in these countries, and, as a first step in investigations along this line, we subjected "Sake", the Japanese rice wine, to a thorough scrutiny.

It seemed useless to try feeding experiments with whole sake, because of the great bulk that must probably be given to the animals in order to produce any marked effect. The task would be simpler if we tested the effect of various chemical substances composing sake, and a series of preliminary experiments was planned based on this idea.

The chemical composition of sake has been well worked out, and recently *Higasi*²⁾ published an extensive paper on the subject. For the purpose

* Aided by grants from the International Cancer Research Foundation, Philadelphia, U. S. A.

¹⁾ *Nakahara, W., and Mori, K., Proc. Imp. Acad., Vol. XV, 278(1939).*

²⁾ *Higasi, T., Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Research, Vol. 33, 1(1937).*

of preliminary survey, we selected the following substances and tested their effect: Evaporated sake (containing carbohydrates, amines, amino acids, non-volatile acids, esters, etc.), acetaldehyde, furfural, methyl alcohol, ethyl alcohol, propyl alcohol, butyl alcohol, amyl alcohol, methyl-ethyl ketone, and glycerol. Some 700 rats were fed on polished rice, to which was mixed one or another of the above listed substances and were kept under observation over 300 days. It was in this way that the cirrhosis producing action of furfural was first discovered, while all the rest of the substances tested failed to produce any significant pathological change in rats under the conditions of this preliminary experiment.

Experimental Methods

Albino rats were used in all the experiments. Other animals, such as mice, guinea pigs, rabbits, dogs, and chickens, were naturally probed, but they seemed less suitable than rats for our experimental purpose.

The experimental methods adopted was of the simplest nature. Essentially it consisted of allowing rats to feed *ad libitum* upon rice to which was added and evenly mixed a definite amount of furfural ($C_4H_6O \cdot CHO$). Usually, but not always, olive oil was introduced along with furfural on the assumption that the dissipation of furfural from the surface of rice grains may be somewhat hindered by so doing. The amount of rice-furfural mixture offered to rats was so regulated that it was consumed within a day or two, and a new supply was not offered until the amount previously given was consumed. In this way an unduly prolonged exposure of the mixture was avoided. The stock mixture was prepared in amount adequate only for a few days supply and was kept in a container with a tightly fitting cover.

Furfural easily polymerizes. In most of our experiments we used freshly re-distilled sample, a practically colorless liquid with the boiling point of 160~162°C. In early experiments a very dark colored commercial sample was used without re-distillation, but this proved as active as purified products.

The amount of furfural added to rice varied in different experiments. Generally it was started with a small amount, say, 10 or 20 cc per 1 kg of rice, and was gradually raised up to 50 cc per 1 kg. Because of the volatility of furfural it was considered useless to try to estimate the actual amount of the substance ingested by each rat.

The toxicity of furfural is not great when given with food and especially when the amount is 2% or less animals seem to thrive and show substantial increase in body weight. Notwithstanding this fact there is a tendency for animals to die early in the course of experiment, as in all other similar experiments. In order to meet this situation it is necessary to start each experiment with a fairly large number of animals.

It has been our experience in furfural feeding experiments that in doses sufficient to produce liver cirrhosis in say 100 days, continued feeding of furfural invariably resulted in the death of all the rats in about 200 days. The reduction in the amount of furfural permitted longer survival of the rats, but the development of cirrhosis was correspondingly delayed (Exp. 6). We also tested the effect of the interruption of furfural feeding, by discontinuing the administration of furfural altogether after a period of sufficient furfural feeding to insure at least the initiation of cirrhotic changes. In this experiment, furfural was fed for the first 142 days before discontinuing the feeding, and many rats survived over 200 days since furfural feeding was interrupted. Advanced liver cirrhosis continued to be found in the rats dying long after the interruption of furfural feeding.

For the exact information as to the more or less varying conditions of individual experiments the reader is referred to the tables (Tables 1~7) appended at the end of this paper, covering the details of all the experiments upon which the present paper is based.

Macroscopic Findings

The time required for the development of macroscopically recognizable changes in the liver of furfural fed rats varied considerably, depending no doubt on the different doses of furfural, other experimental conditions, and individual variation among rats. Generally speaking, however, rats began to show evidence of cirrhotic changes in about 60~90 days after the commencement of furfural feeding. Very extensive cirrhotic changes were found in less than 60 days in a few exceptional cases, and usually, well advanced cirrhotic changes were demonstrated in a high per cent of the rats surviving over 100 days. In one experiment, in which the amount of furfural was greatly reduced, it required 300~500 days before the development of evident cirrhosis.

The earliest changes in the liver brought about by furfural feeding seem to consist of somewhat granular or uneven aspect which the surface



Fig. 1. Three examples of early cirrhosis, showing more or less localized occurrence of cirrhotic changes.

Period of furfural feeding
60~95 days.



Fig. 2. A cirrhotic liver with one lobe apparently unaffected.
Period of furfural feeding
95 days.

of the organ assumes. The detection of this earliest sign is by no means easy for the change involved is so mild that it is brought to attention only after the organ was preserved in formalin, which effects uneven shrinkage of the organ to enhance the uneven aspect.

The more evident and unmistakable early changes in the liver appear as more or less hard and whitish areas with markedly granular surface. This grade of liver changes is designated with + in the tables appended at the end of this paper. Such localized cirrhotic changes appear most frequently in caudate lobes and in the basal part of some of the larger lobes, as may be seen from a few examples shown in Figure 1. This tendency for the localized occurrence may persist even after a considerable progress of the cirrhotic processes, and a part or whole of one lobe may

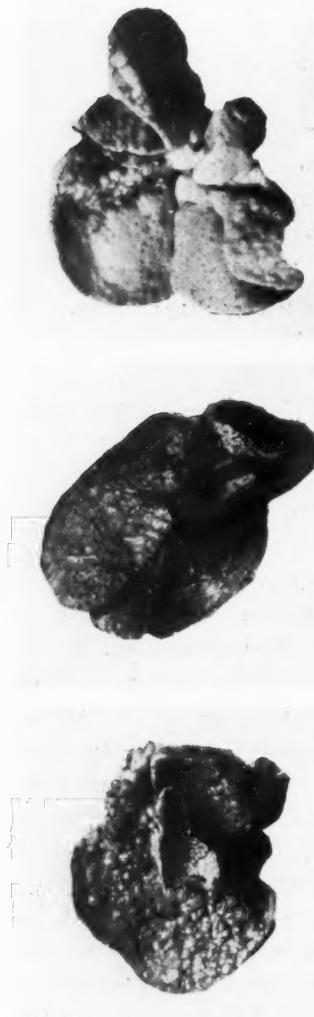


Fig. 3. Three examples of advanced and diffuse cirrhosis. Period of furfural feeding 100~165 days.

distinctly uneven so that the nodular structures come in highly variable sizes. Larger nodules under such conditions may simulate tumors, although the relative softness and brownish red color preclude their being malignant



Fig. 4. A cirrhotic liver with very unevenly granular surface. Period of furfural feeding 87 days (Enlarged).

appear normal with smooth surface when the rest of the organ has already undergone advanced changes (Figure 2).

In typical examples of fully developed cirrhosis, as shown in Figure 3, the entire organ shows markedly granular surface, with countless slightly elevated nodular structures distributed all over the surface. The organ as a whole is hard to the touch and some resistance is felt as it is cut into. The color of the organ tends to be pale, but the nodular parts are never whitish. In some cases the granulation is dis-



Fig. 5. Cirrhotic changes in the liver produced by prolonged feeding (350 days) of small amounts of furfural (Enlarged).



Fig. 6. Exceedingly hard or old form of cirrhosis found in a rat fed with furfural for 142 days and dying 194 days after the interruption of furfural feeding (Enlarged).

tumors. Figure 4 represents an example of this type.

Cirrhotic changes developing under a prolonged feeding of relatively small amount of furfural tend to be localized, although the affected areas themselves are even harder and exhibit more strikingly irregular surfaces than usual. An example shown in Figure 5 was produced under such a condition and it appeared after 350 days of furfural feeding in small doses.

Lastly, the ultimate fate of the cirrhotic changes following the interruption of furfural feeding must be touched upon. In experiment 7 (Table 7 appended

at the end of this paper), furfural feeding was discontinued on the 142nd day, and many of the rats dying after that time continued to show markedly cirrhotic livers. It was noted, however, that these livers tended to be more

fibrous as the time went on, and in many cases very hard and distinctly whitish cirrhotic areas with relatively smooth or very finely and evenly granular surfaces were produced. An example of such livers is shown in Figure 6.

A somewhat surprising feature of the liver cirrhosis produced by furfural was the absence of no notable change in other organs. There was no ascites and no icterus in any of the rats. The size of the liver itself showed no striking deviation from the normal although perhaps a tendency toward atrophy may be perceived as a general rule. A conspicuous fact was the absence of splenic enlargement, which often accompanies liver cirrhosis in man. The following table gives examples of spleen weight in relation to liver weight in several typical cases of furfural cirrhosis.

Liver and Spleen Weights and Their Ratio in Furfural Cirrhosis

(All the rats listed were killed after 150 days of furfural feeding and all showed typical cirrhotic livers)

Rat. No.	Sex	Body weight (g)	Liver weight (g)	Spleen weight (g)	Spleen-liver Ratio
1	♂	140	6.90	0.35	5.0:100
2	♂	150	4.50	0.40	8.8:100
3	♂	140	7.00	0.50	7.1:100
4	♀	180	7.40	0.55	7.4:100
5	♂	140	5.90	0.35	5.9:100
6	♀	100	4.80	0.40	8.3:100
7	♀	100	5.00	0.25	5.0:100

Histological Observations

The liver of the rats dying early in the course of furfural feeding experiments is entirely normal as to the gross appearance. Such a liver shows no striking histological change and may be diagnosed approximately normal. Closer scrutiny may reveal, however, some enlargement and engorgement of sinusoids, especially around central veins, but it is especially to be noted that there is no detectable sign of degeneration among liver cells (Fig. 7).

The only significant changes are found in *Glisson's* capsules, where there is in addition to some round cell infiltration and slight increase of connective tissue, a distinct proliferation of what appear to be the transi-

tional epithelial cells (Figs. 8 and 9). The cells we refer to as transitional epithelial cells are much smaller than the liver cells, more closely resembling the cells of the bile duct epithelium, with clear, roundish nuclei and lightly stained cytoplasm. They seem to be the cellular element which plays an important rôle in producing the characteristic duct-like structures in furfural cirrhosis. Large cells loaded with hemosiderin granules also appear in groups among the infiltrating cells in *Glisson's* capsule, but they are not seen in liver acinus. At this stage the bile ducts are generally not showing evidence of marked proliferation. The liver cells in the area contiguous with *Glisson's* capsule are often enlarged showing large nuclei, sometimes bi- or multinucleated, and vacuoles of varying sizes may be seen in the enlarged liver cells (Fig. 8). In appearance these vacuolated cells resemble pseudo-xanthoma cells.

The general histological pictures continue to be essentially the same as above as long as liver remains nearly normal macroscopically, even 50~60 days after the beginning of the experiment. There is no recognizable necrotic change in the central part of the lobule.

The productive changes in *Glisson's* capsule advance especially through the increase of the transitional epithelial cells, along with that of round cell infiltration and of connective tissue proliferation, and these changes gradually encroach upon the lobules, tending to produce the picture of typical annular cirrhosis (Fig. 10). Further progress of the changes is characterized by the continued increase of connective tissue which invades the liver lobules not only from the periphery but also through the "arterovenöse Strombahn" of Nagayo (Fig. 11). By these processes the lobules become reduced in size through encroachment from the periphery as well as by being divided off by the strands of connective tissue running from *Glisson's* capsule to central vein. Some of the small isolated portions of lobules may become completely obliterated and replaced by connective tissue, producing extensive cirrhotic areas. The fibrous elements prominent in these processes are collagenous (Fig. 11) and reticular fibers (Fig. 12), both of which seem to undergo considerable proliferation. The increase of elastic fibers seems not to be noteworthy.

In livers with advanced cirrhosis there occurs sometimes tumor-like enlargement of parenchyme tissue, composed of lobules containing some hypertrophic liver cells. In such cases, there may be actual enlargement of individual lobules, but outside of these conditions we have not seen an

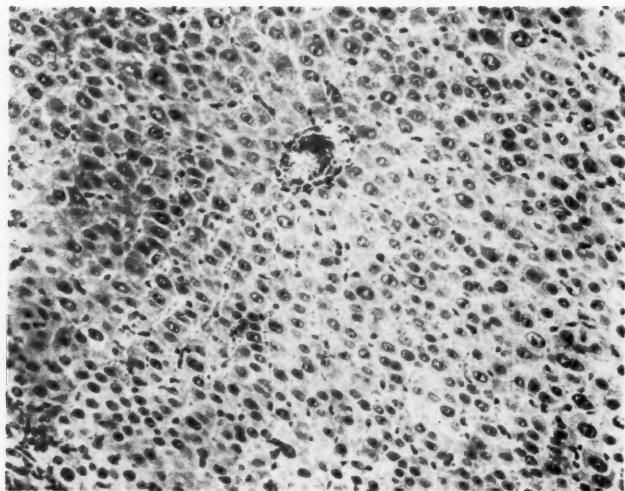


Fig. 7. Liver lobule showing no evidence of liver cell degeneration preceding the development of cirrhotic changes. At this stage the early changes in *Glisson's capsule* are already indicated. Period of furfural feeding 30 days.

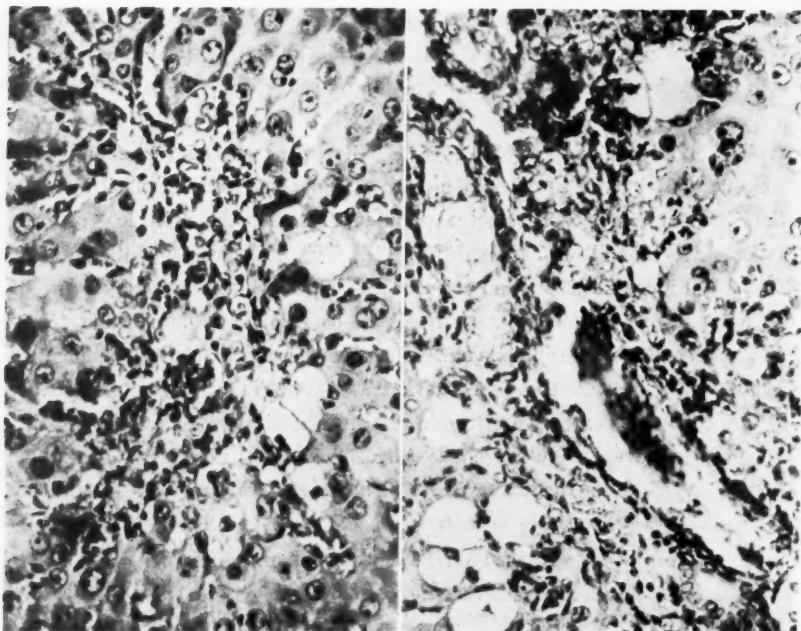


Fig. 8. Early changes in *Glisson's capsule*, showing at the same time the appearance of the vacuolated cells in the peripheral part of liver lobule. Period of furfural feeding 30~40 days.

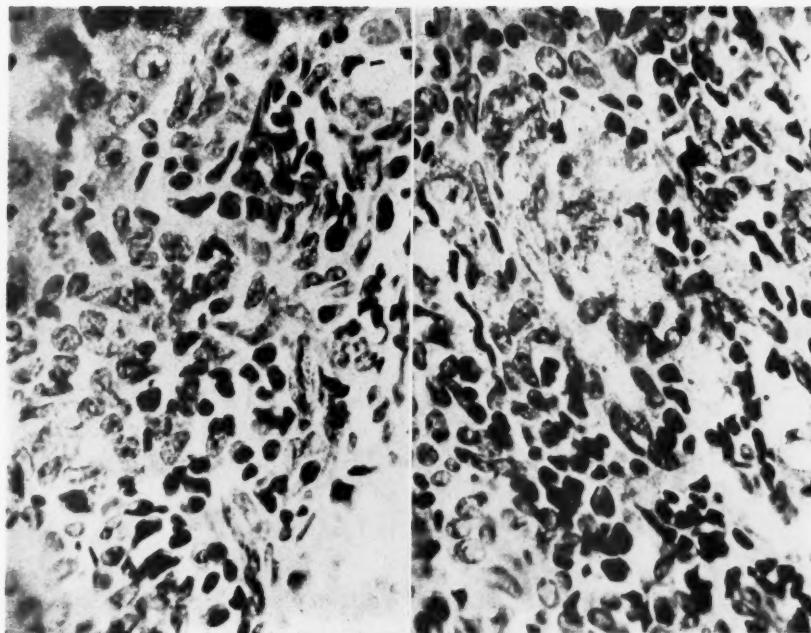


Fig. 9. Early changes in *Glisson's* capsule, showing, under higher magnification, the cellular types participating in the reaction. Period of furfural feeding 30~40 days.

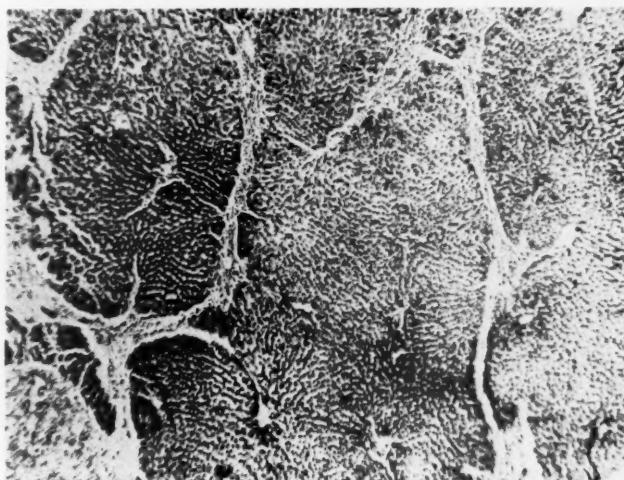


Fig. 10. Annular appearance of the cirrhotic changes. Period of furfural feeding 80 days.

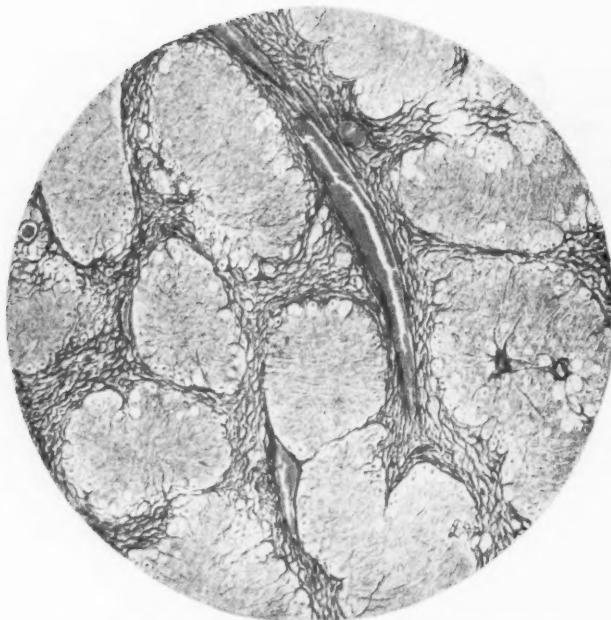


Fig. 11. Another example of annular cirrhosis showing the proliferation of collagenous fibers. *Mallory* preparation. Period of furfural feeding 95 days.

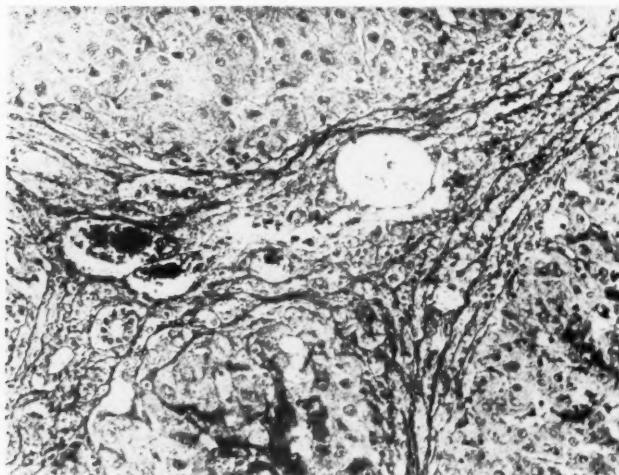


Fig. 12. Extending interstitium in annular cirrhosis, showing the proliferation of reticular fibers. *Silver* preparation. Period of furfural feeding 95 days.

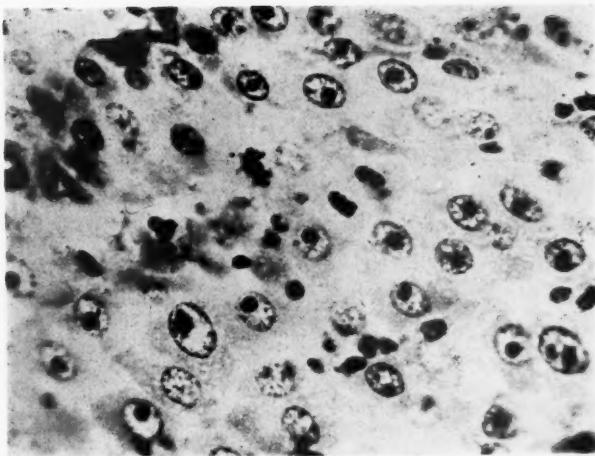


Fig. 13. Mitotic figures among hypertrophic liver cells in a part of liver lobule encircled by the proliferating interstitial elements. Period of furfural feeding 65 days.

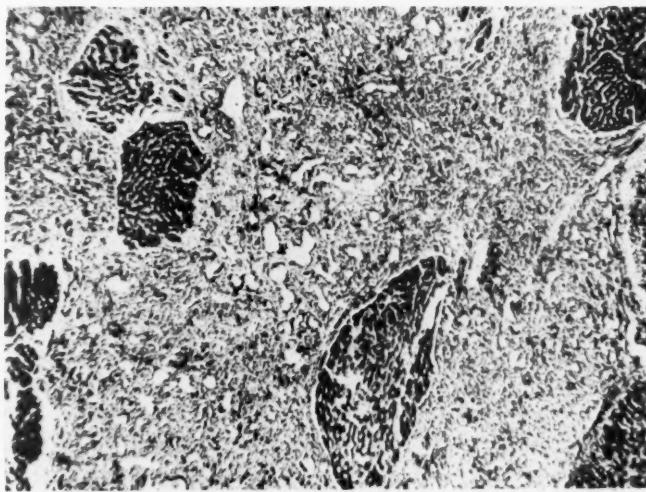


Fig. 14. Extensive formation of pseudo-bile ducts in cirrhotic area which replaced considerable portion of liver lobules.
Period of furfural feeding 120 days.

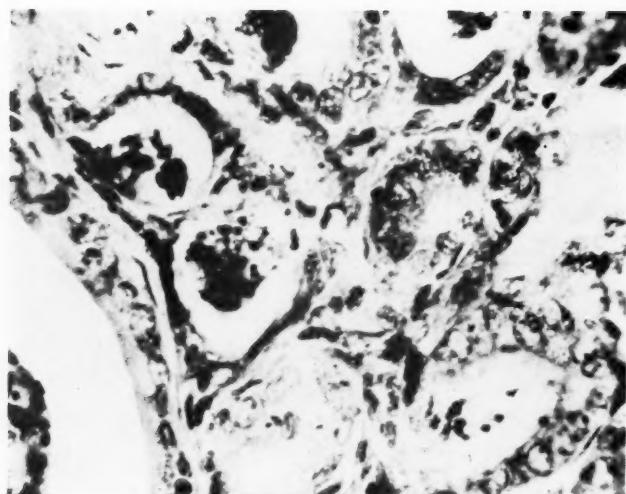


Fig. 15. More typical tubular forms of duct-like structures occurring in cirrhotic area. These represent the proliferating true bile ducts rather than pseudo-bile ducts. Period of furfural feeding 90 days.



Fig. 16. Structural modifications of pseudo-bile ducts in cirrhotic area. Period of furfural feeding 90 days.

instance of any abnormally enlarged lobule. The consistent tendency seems to be that lobules are reduced in size, subdivided, and replaced to varying extent by the cirrhotic tissue. The granular gross appearance of the liver must therefore be accounted for solely by the shrinkage along the lines of connective tissue proliferation, the nodular hypertrophy of the parenchymal element taking no part in the process.

There are numerous cases of hypertrophy of individual liver cells but such cells show little tendency to group together to assume nodular forms. The signs of regenerative reaction of liver cells to the invasion by cirrhotic tissue are often seen, and mitotic figures may be found among the liver

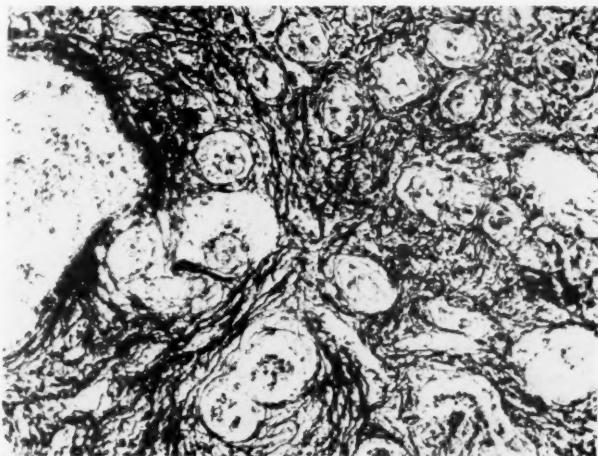


Fig. 17. Proliferation of reticular fibers in cirrhotic area thickly investing pseudo-bile ducts. Silver preparation. Period of furfural feeding 120 days.

cells in such cases (Fig. 13). The arrangement of cells tends to be irregular. Hemosiderin granules are seldom found in liver cells; these granules, when found in liver lobules, are confined for the most part in *Kupfer's* stellate cells.

A constant occurrence in the cirrhotic area occupied by connective tissue is the appearance of numerous duct-like structures. These structures undoubtedly represent morphological modifications of transitional epithelial cells and also of liver cells. They may be no more than masses of a few liver cells encircled by connective tissue, scarcely assuming a tubular shape. Such a type as that is rare, however, and in the overwhelming number of

cases, the transitional cells and modified liver cells are arranged tubularly, forming typical pseudo-bile ducts (Fig. 14). Sometimes masses of regularly glandular structures appear in cirrhotic areas, and these represent proliferation of true bile ducts (Fig. 15).

Very frequently the size and shape of the duct-like structures are irregular, some showing fantastic convolutions and marked enlargement of the lumens (Fig. 16). Some of these irregular forms may even be called cystic and papillary. The widened lumen of such a duct may be filled with



Fig. 18. Marked increase of collagenous fibers in old cirrhotic area in rat fed with furfural for 142 days and dying 194 days after the interruption of furfural feeding. *Van Gieson* preparation.

amorphous matter suggestive of some secretion products, and the wall of the duct may be reduced thin and flat apparently pressed upon by the adherent content of the lumen. The proliferation of collagenous fiber is prominent in the cirrhotic areas containing these duct-like structures, and reticular fibers also undergo considerable increase. In silver preparations thick bundles of reticular fibers can be seen closely investing these structures (Fig. 17).

The histological features of cirrhotic changes found following a prolonged period of non-furfural feeding after some 140 days of furfural feeding were not essentially different from what has already been described. The only notable difference seemed to consist of the more extensive fibrosis, due to the marked increase especially of collagenous element. This is well illustrated in Figure 18 which depicts a *van Gieson* preparation of such an example, in which the scattered pseudo-bile ducts are seen imbedded in thick layers of collagenous fibers, simulating the histological picture of fibro-adenoma.

Upon the whole the annular appearance and the extreme development of the pseudo-bile ducts may be said to from the main histological characteristics of the cirrhotic changes induced by furfural feeding.

Discussion

There has been a tendency to explain the histogenesis of atrophic cirrhosis as a whole as being due to secondary proliferation of connective tissue which takes place as a sequel to the degeneration of liver cells. That this explanation may not suffice for all the types of cirrhosis as observed in man has been clearly pointed out by *Nagayo*³⁾, who advocated the existence of two sharply definable forms of atrophic cirrhosis. In one form the primary changes are to be found in the necrosis of liver cells, connective tissue proliferation following it as a secondary process. This form he designated secondary cirrhosis or atrophic cirrhosis Type A. In the other form (Type B) the necrotic changes of the liver cell is of less importance, the cirrhosis being produced as the result of the primary connective tissue proliferation.

The cirrhotic changes produced by furfural feeding are not characterized by the reparative connective tissue proliferation following the degeneration of liver parenchyme. Instead, the changes start as the primary, productive interstitial processes, in which liver cell injuries are of secondary significance. Histologically, therefore, our furfural cirrhosis may be regarded as corresponding to atrophic or genuine liver cirrhosis Type B, according to the classification proposed by *Nagayo*. We do not mean to say that liver cell injuries do not occur under the influence of furfural feeding. We are simply of the opinion that such signs of liver cell injuries as

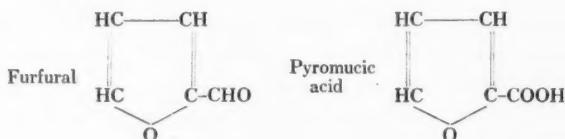
³⁾*Nagayo, M.* Verhandl. japan. pathol. Gesselsch., 4^{te} Tagung, 5 (1914).

can be found are altogether insufficient to support the idea that cirrhotic changes may be secondary to them.

In human pathology it has often been remarked that liver cancer is most frequently combined with cirrhosis, especially with atrophic cirrhosis, and some authors even regard cirrhosis as a typical precancerous change. In experimental liver cancer produced by certain azo-compounds, we also know that cirrhotic changes are very frequent forerunners of liver cancer.

In the case of our furfural cirrhosis, many points in its histology suggest the possibility of the eventual development of liver cancer, and show remarkable similarity to the precancerous cirrhosis due to the feeding of azo-compounds. So far, however, we have not encountered a single case of liver cancer among the furfural fed animals.

We have had little opportunity of testing cirrhosis producing action of substances related to furfural. The substances we did test include pyromucic acid ($C_4H_3O\cdot COOH$), which is said to be produced by the oxidation of furfural or by dry distillation of mucic acid, and is of very similar structure to furfural.



Feeding of this substance in the same way as in furfural experiments did not produce any recognizable liver change in rats, at least up to 154 days. Apparently the furan nucleus does not necessarily determine the cirrhosis producing action of these substances.

Among aldehydes, perhaps benzil aldehyde ($C_6H_5\cdot CHO$) may be regarded as chemically close to furfural ($C_4H_3O\cdot CHO$). This, like pyromucic acid, also failed to bring about liver changes.

Finally, we have to add that xylose feeding likewise resulted in a complete negative. It is well known that furfural is formed quantitatively by the distillation of pentose with dilute acid, but our experiment seems to show that furfural formation from pentoses does not take place in the animal body, at least not to a sufficient extent to be reflected by the production of cirrhotic changes in the liver.

Summary and Conclusion

Furfural ($C_4H_5O\cdot CHO$), a constituent of sake and other fermentation products consumed by humans, when fed to rats mixed with rice, produces cirrhotic changes in the liver. Under the usual conditions of our experiments marked liver cirrhosis was engendered in high proportions of animals surviving 100 days or more. The cirrhotic changes produced by furfural feeding are apparently initiated by the primary productive interstitial processes, without notable necrosis of liver cells, and are characterized by the prominent annular picture and the proliferation of pseudo-bile ducts.

In conclusion we express our cordial appreciation to Professor *Mataro Nagayo*, M. I. A., for his encouragement and ever helpful instructions, suggestions and criticisms. To Professor *Umetaro Suzuki*, M. I. A., of the Institute of Chemical and Physical Research, Tokyo, we are indebted for many favors. Acknowledgment is also due to Dr. *Tuneto Higasi* of the same Institute for useful information and to Dr. *Sanji Kishi* of the Chemical Division of our Laboratories for friendly cooperation.

Appendix

In experiments of the nature such as the series upon which the present paper is based it is of importance that the actual number of animals used and the rate in which the pathologic condition in question appeared be disclosed in a precise manner, and we attempted to present such data as required in the following tables. In all the tables animals dying early in the course of the experiment showing no relevant gross change are omitted. Each list starts with the first animal to die with macroscopically recognizable liver changes, and all the animals dying since that time are recorded.

The following standards were adopted in expressing the liver findings : # = advanced cirrhosis involving or tending to involve the entire organ ; + = cirrhotic changes more or less localized ; and - = cirrhotic changes not apparent in gross, but usually showing histological evidence of early cirrhotic processes.

Table 1. Experiment 1

Diet: Polished rice, with fresh carrot supplement.

Furfural: 1% for the first 22 days, 2% for next 13 days, 3% for next 48 days, 4% thereafter.

Started with 100 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♀	65	130	100	76	-
2	♂	60	60	50	77	+
3	♂	65	80	80	89	++
4	♀	80	90	40	90	-
5	♀	85	85	55	98	-
6	♀	70	80	60	102	+
7	♂	120	130	130	110	+
8	♀	45	90	90	110	++
9	♂	85	100	60	110	+
10	♂	70	80	70	117	+
11	♂	60	80	65	130	+
12	♂	50	70	60	132	+
13	♂	80	100	90	136	++
14	♂	75	100	95	137	+
15	♂	35	80	80	152	+
16	♂	60	80	65	152	++
17	♂	40	75	75	166	+
18	♀	65	100	95	166	+
19	♀	60	90	80	167	++
20	♀	70	85	70	173	+
21	♀	70	100	85	176	+
22	♀	65	80	70	177	+
23	♀	75	100	80	183	++
24	♂	60	80	60	186	++
25	♀	90	110	60	194	+

Table 2. Experiment 2

Diet: Polished rice with fresh carrot supplement.

Furfural: 2.5% for the first 24 days, 3% for the following 20 days, 5% thereafter.

Started with 43 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♂	160	160	130	39	+
2	♂	170	170	150	41	-
3	♀	140	145	90	43	+
4	♂	140	190	150	44	-
5	♂	140	150	125	47	-
6	♂	150	150	100	47	+
7	♀	160	160	155	49	-
8	♂	160	165	145	50	+
9	♂	120	135	90	50	+
10	♂	115	180	165	53	-
11	♂	165	165	145	54	+
12	♂	145	145	120	55	-
13	♀	145	145	120	55	-

14	♂	150	150	95	61	+
15	♂	145	145	70	63	++
16	♂♂	130	130	115	65	++
17	♂♂	140	140	85	69	++
18	♂♀	145	160	100	87	++
19	♂	140	245	120	193	++

Table 3. Experiment 3

Diet: Unpolished rice with dried fish and carrot supplements.

Furfural: 2.5% for the first 26 days, 5% thereafter.

Started with 100 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♂	120	120	90	26	+
2	♀	105	105	60	26	-
3	♀	95	95	60	28	++
4	♂♂	110	110	80	30	++
5	♀	100	100	85	31	-
6	♀	120	120	80	38	-
7	♀	120	120	70	39	+
8	♀	110	110	70	39	-
9	♂♂	120	120	90	40	-
10	♂♂	105	105	90	40	-
11	♂♂	110	110	75	40	-
12	♂♂	125	125	90	41	+
13	♂♂	110	110	85	41	-
14	♂♂	120	260	220	44	-
15	♂♂	115	115	90	46	+
16	♂♂	130	165	130	49	++
17	♂♂	130	130	105	50	++
18	♂♂	110	110	110	50	-
19	♂♂	150	150	105	59	+
20	♂♂	150	150	100	60	++
21	♂♂	140	140	115	64	++
22	♂♂	130	130	90	64	++
23	♂♂	170	170	120	65	++
24	♂♂	140	150	60	65	+
25	♂♂	140	140	90	66	-
26	♂♂	110	110	65	67	++
27	♂♂	110	110	80	70	-
28	♂♂	95	95	75	73	+
29	♂♂	120	120	65	73	+
30	♂♂	100	100	65	114	++

Table 4. Experiment 4

Diet: Polished rice with fresh carrot supplement.

Furfural: 4% throughout.

Started with 7 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♂	160	160	120	180	+
2	♀	170	170	120	196	++
3	♂	200	200	100	197	-

4	♀	190	190	110	198	+
5	♂	160	160	100	199	++
6	♀	170	170	90	205	++

Table 5. Experiment 5

Diet: Polished rice with fresh carrot supplement.

Furfural: 4% for the first 42 days, 5% thereafter.

Started with 100 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♂	110	120	120	38	+
2	♂	130	130	100	39	++
3	♀	100	190	190	40	-
4	♀	100	100	90	40	-
5	♀	110	120	120	45	+
6	♂	100	100	100	47	+
7	♂	130	150	100	50	+
8	♀	100	105	100	55	+
9	♀	165	170	150	58	-
10	♂	100	100	100	58	+
11	♂	140	140	120	59	-
12	♂	110	130	130	60	++
13	♂	130	130	70	64	+
14	♀	140	140	80	68	-
15	♀	130	130	120	69	++
16	♀	100	160	160	85	+
17	♂	150	150	140	87	-
18	♂	125	125	120	88	-
19	♂	100	110	110	88	++
20	♀	110	150	150	88	-
21	♂	120	160	160	88	++
22	♂	110	140	140	88	+
23	♂	120	150	150	88	+
24	♂	110	130	130	88	+
25	♂	130	150	130	88	++
26	♂	110	110	75	95	++
27	♂	140	140	85	102	-
28	♂	100	120	100	102	-
29	♀	100	160	95	102	-
30	♂	160	160	110	102	-
31	♂	110	140	95	139	+
32	♀	110	140	95	142	++
33	♂	120	150	110	149	++

34	♂	130	190	110	165	++
35	♂	160	160	105	165	++
36	♂	120	130	90	165	++
37	♂	200	210	120	167	++
38	♂	110	140	100	182	++

Table 6. Experiment 6 (Reduced amount of furfural)

Diet: Polished rice with fresh carrot supplement.

Furfural: 1% for the first 3 months, 2% for the next 4 months, 4% thereafter.

Started with 63 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♂	95	150	130	215	+
2	♀	100	120	120	247	-
3	♀	90	100	100	254	+
4	♀	80	100	100	264	+
5	♀	90	150	120	318	+
6	♂	70	90	60	345	+
7	♂	85	175	130	350	+
8	♀	90	130	90	379	+
9	♀	85	180	120	396	-
10	♀	120	175	135	433	+
11	♂	55	210	115	460	-
12	♂	65	240	160	548	+

Table 7. Experiment 7 (Interruption of furfural feeding)

Diet: Polished rice with fresh carrot supplement.

Furfural: 1% for the first 11 days, 2% for next 35 days, 3% for next 42 days, 4% thereafter for 50 days: total 142 days.

Furfural feeding discontinued after the 142nd day.

Started with 100 rats.

Rat. No.	Sex	Body weight in g			Period of furfural feeding in days	Liver findings
		Initial	Maximum	Final		
1	♀	100	105	105	100	+
2	♀	120	140	110	100	-
3	♂	90	90	85	101	-
4	♀	110	120	120	102	-
5	♀	120	125	100	102	+
6	♂	100	100	100	103	-
7	♂	125	135	100	104	-
8	♂	100	115	100	104	-
9	♂	100	100	100	104	-
10	♀	110	120	100	107	-
11	♂	130	130	125	107	-
12	♀	90	110	100	110	++
13	♂	120	125	120	111	++
14	♀	75	85	65	112	++
15	♂	155	160	105	113	-

16	♀	95	105	95	116	-
17	♀	130	130	100	116	++
18	♀	90	95	90	116	++
19	♂♂	125	135	110	117	++
20	♂♂	95	110	90	119	++
21	♂♂	75	90	90	170	-
22	♀♂	115	130	120	123	++
23	♀♂	170	180	180	124	-
24	♂♂	120	130	110	124	+
25	♂♂	150	150	145	130	-
					Period in days after discontinua- tion of furfural feeding	
26	♂	80	90	75	14	++
27	♂♂	85	100	70	15	-
28	♂♂	130	140	90	15	++
29	♂♂	90	100	80	25	++
30	♀♀	100	120	120	48	++
31	♂♂	130	160	150	48	++
32	♂♂	140	170	150	48	++
33	♂♂	140	170	160	55	++
34	♂♂	130	145	85	73	++
35	♂♂	85	110	90	96	++
36	♀♀	95	120	120	100	++
37	♀♀	110	110	100	106	++
38	♂♂	85	100	80	128	++
39	♂♂	115	135	100	135	-
40	♀♀	105	115	85	164	-
41	♀♀	100	130	85	165	-
42	♂♂	125	150	110	165	-
43	♂♂	115	150	110	177	++
44	♂♂	140	150	140	178	++
45	♀♀	110	130	105	179	++
46	♀♀	120	155	110	181	++
47	♂♂	100	125	90	191	++
48	♀♀	100	120	55	194	++
49	♀♀	115	160	100	197	++
50	♂♂	105	130	80	209	++
51	♀♀	110	130	95	219	++
52	♂♂	165	180	175	220	++
53	♂♂	170	200	150	227	++
54	♀♀	110	170	100	229	++
55	♀♀	100	150	70	240	++
56	♀♀	105	150	130	254	++
57	♂♂	140	190	120	254	++
58	♂♂	90	140	120	294	++

要　旨

Furfural 飼與による実験的肝硬変

中原和郎，森和雄

(癌研究所)

(昭和16年4月1日受付)

1939年余等は furfural ($C_4H_6O \cdot CHO$) を米に混じてラットに與へるに顯著な肝硬変が起るこを發見し、帝國學士院紀事に豫報を發表したが、本文に於て、その後實驗を重ねて得た知見を一括して記述した。即ち實驗方法、肉眼的及び組織學的所見を詳記し、更に附錄として各實驗の内約を表示してその實況を明にして置いた。

Furfural 肝硬変の性狀を約言せば、肝細胞の著明な壞死を伴はない第一次的の結締組織増殖に由來するもので、組織學的には、明かな輪狀硬變像と、顯著な擬膽管増生を示してゐる。

Furfural は日本酒その他人類の飲食物となる種々な醸酵生産物中に含有されてゐる aldehyde である。此の様な物質の飼與による肝硬変の成生は、實驗病理學的の興味に止まらず、衛生學的見地よりの關心をも伴ふものと思ふ。

On Heteroplastic Transplantation of Mouse Sarcoma

By

Mataro Nagayo

(Laboratories of the Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo)

(With Plates XXXI-XXXIV)

(Received for Publication, April 30, 1941)

In 1938, *Nishiyama*¹⁾ of the *Sasaki* Laboratory, Tokyo, published the noteworthy fact that repeated subcutaneous injections of concentrated glucose solution into rats produce sarcomas at the site of injection. The sarcomas were mostly of spindle cell or polymorphous cell type, both types of cells often occurring together in a single tumor. In rare cases parts of the tumors showed the picture of fibrosarcoma, myxoma, angioma, chondroma, etc. Metastases were found in a few cases, and some of the tumors were transplantable. *Takizawa*²⁾, in our laboratory, confirmed the work of *Nishiyama* and reported that sarcomas can be produced in mice by repeated injections not only of glucose but also of such monosacharides as fructose and galactose. The present paper is based on the experiments with one of the strains of transplantable sarcomas established by *Takizawa*.

The tumor, a spindle cell sarcoma, was originally produced by fructose injections. During the routine transplantation of the tumor, two rats were implanted with grafts from a 38th generation transplant, without serious intention, but large tumors, identical with the original, happened to be produced in both rats. This totally unexpected result was always reproducible on subsequent repeated trials, and the tumors transplanted in rats were also readily transplantable back to mice. The extraordinary transplantability of this strain of mouse sarcoma into rats called for detailed further investigation.

Characters of the Present Tumor

The primary tumor, from which the present transplantable strain was derived, was produced by *Takizawa* in a mouse (M. 2139) by daily injec-

¹⁾ *Nishiyama, T.*, Gann, vol. 32, 85(1938).

²⁾ *Takizawa, N.*, Gann, vol. 34, 1(1940).

tions of 25 g dl solution of d-fructose (sterilized for 1 hour in a steam sterilizer, and the sugar proved to be unchanged as to the polarization), in doses of 0.5 cc at first and 0.7 cc later for a period of 296 days.

The injections were made subcutaneously at the same site below the middle of the back to the right side. Histologically the central or older part of the tumor was made up of the characteristic slender spindle cell sarcoma (Fig. 1), rich in collagenous fibers with occasional hyalinized areas. Toward the peripheral part of the tumor there was a gradual increase of more plump spindle cells, the sarcoma cells were packed less compactly, and thus the sacoma tissue gradually passed over to the surrounding connective tissue (Fig. 2). In the tissue contiguous to the tumor there were marked hypertrophy and proliferation of fibroblasts, rich supply of capillaries, and a slight infiltration of leucocytes, histiocytes, etc. Mitotic figures within the tumor tissue were numerous especially in the peripheral part, the tumor grew expansively in all directions, and at the same time showing infiltrative growth into the adjacent muscle.

The first transplantation was made by subcutaneously implanting into 5 normal mice small fragments of the tumor of the character just described. The grafts took only in 1 of the 5 mice. From this sole 1st generation transplant was made the 2nd generation transplantation, in which tumor grew in 3 of the 5 mice implanted. The rate of positive transplantations varied sometimes during subsequent generations, but from about the 30th generation on the transplantability became fairly well fixed, usually yielding 80~100% of positive takes. With the improved transplantability, the growth rate of the tumor also increased, and tumors rapidly became large, underwent extensive necrosis, and perforated through the skin. For this reason the interval between transplantations, which was at first 1 month or 1½ months, had to be gradually shortened to 10 days or 2 weeks.

The morphology of the transplanted tumors was identical with that of the original primary tumor during the early generations. Subsequently, however, the tumors came to contain more of the short spindle-shaped cells; rather small irregularly roundish cells also appeared, often mixed with giant cells, and in some parts the picture suggestive of myxosarcoma was shown.

The histological character of the tumor became generally constant from about the 30th generation on. The main constituents of the tumor were closely packed short spindle cells and polymorphous cells, slender spindle

cells being comparatively less numerous. The tumor became softer and macroscopically appeared greyish red in color due to the engorged blood capillaries. Mitotic figures were abundantly found especially among short spindle cells, and the growth of the tumor became very rapid. Thus, the present strain of tumor has undergone certain morphological alteration during serial transplantations within the same species (mice) hand in hand with the increasing transplantability. Such was the characters of the tumor when it was successfully transplanted into a different species, namely rats (Figs. 3 and 4).

Character of Mouse Sarcome Transplanted in Rats and the Rate of Positive Transplantation

The first heteroplastic transplantation was made into 2 rats with grafts from a 38th generation tumor in a mouse, the both rats showing positive results. Similar experiments were repeated more than a dozen times and in every case with positive transplantation of the tumor from mice to rats. Attempts to transplant the tumor to rabbits, guinea pigs, and chickens all failed. So also failed the trials to transmit the tumor among mice by the injections of *Berkefeld* filtrate or of desiccated tumor tissue.

The tumors produced in rats by transplantation from mice morphologically completely agreed with the tumor in mice as described already. This was true of the first generation (Figs. 5, 6 and 7), and of all the subsequent generation transplants in rats (Fig. 8).

The tumors propagated in generations of rats, when transplanted back to mice gave rise to the tumors of the identical characters (Fig. 9).

In both mice and rats the site of transplantation showed a slight temporary swelling, which subsided the next day. The swelling due to tumor growth started 2 or 4 days after the transplantation in mice. This was delayed by about 1 day in rats. The swelling increased rapidly, reaching the maximum usually at about 10 days after transplantation. After this time the continued growth of tumor was not common, and various regressive changes and necrosis generally started from the center of the tumor and gradually spread toward the periphery. Many of the mice died of the tumor 20~25 days after transplantation. In rats the absorption of tumors, after their temporary growth to fairly large sizes, took place not infrequently. In other cases the rats died of the tumors in about 30 days after transplantation. The well grown tumors in mice were of the size of sparrow's

eggs or walnuts.

I already stated that the present strain of sarcoma, after 35 or 36 generations of transplantation in mice, has been showing practically 100% of takes (Chart 1). A similar high percent of positive growth resulted when the tumor was returned to mice, after a few generations of transplantation in rats (Chart 3). In contrast to these, the rate of positives in serial transplantation in rats was low, being usually 40% or even less, and very exceptionally 100% (Chart 2).

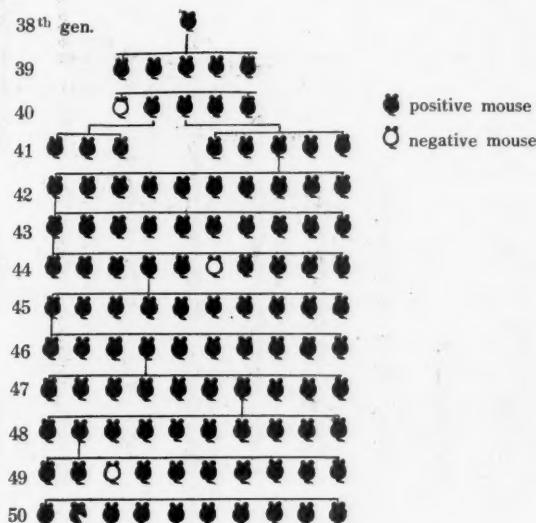


Chart 1. The rate of positive transplantation
of the present strain of mouse sarcoma
in mice.

Events Leading to the Establishment of Heteroplastic Transplantation.

In view of the morphological identity of the mouse tumors and the tumors produced by their transplantations in rats, the constantly reproducible successful transplantation into rats, and the ready active growth of the tumor in rats when transplanted back to mice, it may be safe to conclude that successful transplantation of a strain of mouse tumor into rats has been accomplished. Before arriving at the final conclusion, however, it may be advisable to scrutinize the histological processes involved, in order

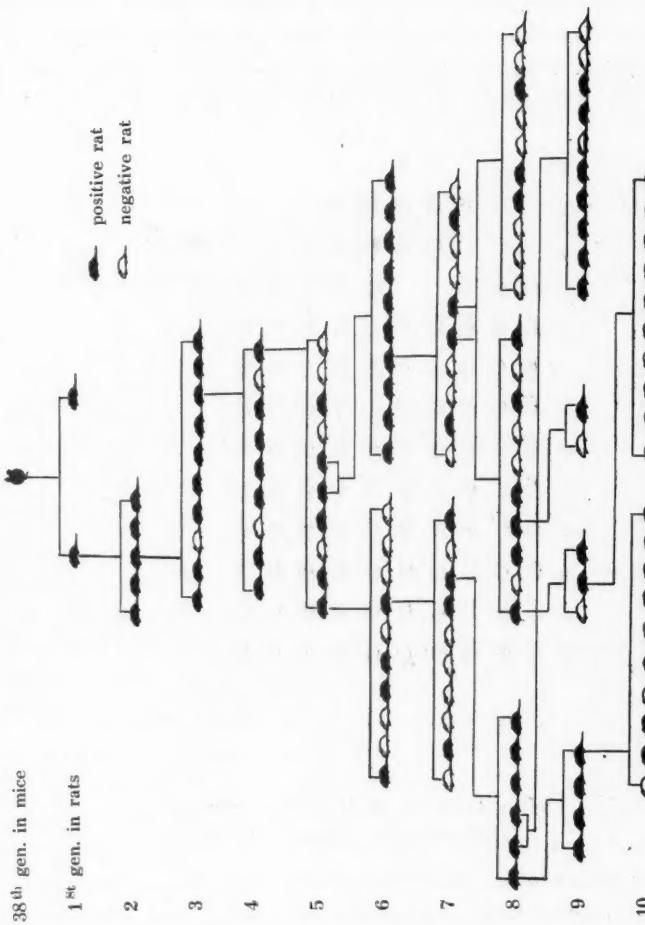


Chart 2. The rate of positive transplantation of the mouse sarcoma in rats.

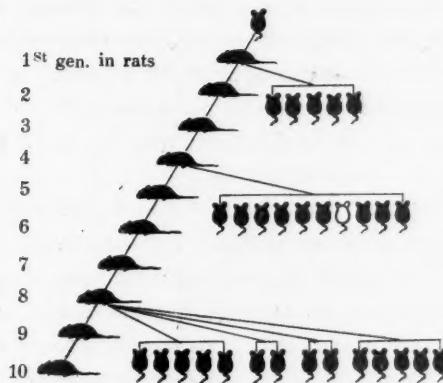


Chart 3. The rate of positive transplantation
of the mouse sarcoma when returned
to mice from rats.

to establish that the tumors developing in the rats are actually derived from the transplanted mouse tumor cells.

The active layers of the present strain of mouse sarcoma, grown under the identical conditions, were cut into small pieces of uniform size, and a large number of rats were transplanted with one piece each of the tumor under the skin on the back. The rats were killed in groups of 2~4 at the following periods after the transplantation: 30 minutes, 1 hr., 2 hrs., 4 hrs., 6 hrs., 8 hrs., 12 hrs., 18 hrs., 21 hrs., 24 hrs., 2 days, 3 days, 4 days, 8 days and 12 days. The tumor grafts with surrounding tissues were excised and subjected to a close microscopical examination, the results of which may be briefly described as follows:—

The graft itself was apparently unchanged during the 1 hour after transplantation, and it showed many mitotic figures. After 2 hours, the number of mitotic figures was reduced, otherwise being the same as before. The cell division was no longer observed at the 6 hour period, and signs of degenerative changes appeared in the central part of the graft; these features becoming more evident at 6~8 hour periods. The degenerative changes manifested themselves early among the polymorphous and short spindle cells which were closely packed in the central part, and the changes extended gradually towards the periphery. The tumor cells became more roundish and smaller as they began to atrophy, showing nuclear pyknosis

or karyorhexis. At 12~18 hour period, the atrophic changes involved almost the entire graft, the central part of which was already necrobiotic or necrotic, leaving active, living cells only in the periphery of the tumors and around blood vessels. At 24 hour period only small groups of living tumor cells were scattered through the peripheral layer. These surviving cells, with comparatively strong resistance, were the rather slender spindle form of sarcoma cells. (Figs. 10 and 11).

While the graft itself was undergoing the changes as described above, the process of union with tissue of the host surrounding the graft took place, and as the blood supply became established there appeared the signs of regeneration among the groups of the spindle shaped sarcoma cells surviving in the periphery of the graft. This was evidenced by the appearance of mitotic figures among these cells at 2 or 3 day period, and from the 4th day on these signs of cells division became conspicuously numerous. The turning point from the degenerative to regenerative or progressive processes on the part of the graft seemed to occur around 2 days after the transplantation.

The processes of the union of the graft with the surrounding tissue of the host are worthy of special consideration since it is through this process that the nutritional supply to the graft is established.

Careful observations disclosed that 30 minutes after transplantation a portion of the graft was already closely attached to the subcutaneous connective tissue or adipose tissue, associated with a few leucocytes. At 60 minute period, leucocytes were increased somewhat and mixed with these were granules of fibrin-like substance which reacted positively to fibrin staining. These were probably the first morphological expression of the tissue adaptation which helps to bring about the difficult process of the union of the two fresh cut surfaces, one of the graft and the other of the host tissue. This union or growing together of two tissue surfaces may be difficult where there is too extensive exudation of leucocytes or of tissue fluid. The processes involved seem to be of very delicate nature, and the failure of these processes to effect the proper union of graft and soil is probably the major cause of the failure of heteroplastic tumor transplantation in general. The reactive changes in the host's tissue at the site of grafting took place as early as 2 hours after transplantation, and these consisted of the engorgement of blood capillaries in the area close to the wound surface and also the migration of leucocytes. These changes became

more marked at 4~8 hour period, when they might accompany small hemorrhage and edema. Leucocytes promptly migrated on to the wound surface, penetrated into the graft already at 6 hour period, and accumulated in the central necrotic area, advancing inwardly mainly along the blood vessels. This process can be followed with especial clearness with the aid of oxydase staining.

After 24 hours the leucocytic infiltration in the subcutaneous connective tissue was already subsiding, and while there were some lymphocytic and histiocytic infiltrations at this time, by far the most striking phenomena were the appearance of numerous fibroblasts, due to the hypertrophy and proliferation of connective tissue cells, and the proliferation of capillaries. These changes rapidly progressed and at 2~3 day period the penetration of capillaries into the tumor tissue, passing the line of the now united wound surfaces, can be easily recognized. The nutritive supply for the surviving tumor cells thus established, these cells now started actively to proliferate, and the tumor cell proliferation was soon followed by the appearance of fine reticular fibers in intercellular spaces.

There is no doubt that the parenchymal cells of the tumor produced in rats are derived from the transplanted mouse sarcoma cells through their proliferation, while the stroma elements come from the host's tissue. This can be demonstrated especially clearly in the case of blood vessels. The tumor grows expansively for a time but later the growth takes more infiltrative attitude so that some of the host's connective and adipose tissues and muscle are bound to become included in the interstitium of the tumor. Moreover, the penetration into the tumor graft of host's fibroblasts, histiocytes, etc., along with capillaries, is demonstrable. These facts are in agreement with the observations of *Bashford, Murray, Hoaland, Woglam*, etc., in the case of homoplastic cancer transplantation in mice. These authors maintained that the original stroma element brought in with the cancer graft gradually degenerated. This point was difficult to follow in the case of sarcoma, especially spindle cell sarcoma such as I have to deal with, but my observations lead me to think that the same holds in my case of heteroplastic transplantation.

In the present strain, as has been reported for other sarcomas, serial transplantations often produced an increase in blood vessels, sometimes giving the tumor the appearance of angiosarcoma. This is probably due to the superabundant capillaries, penetrating into the graft at the time of the

latter's establishment. The occasional presence of hemorrhage and hematoma within a transplanted tumor probably indicates a rich blood supply. The occurrence of fibromatous, myxomatous, or more rarely cartilage tissues within the typical sarcoma may be due to the metaplasia of host's connective tissue cells which invaded the tumor along with blood vessels, though I hesitate to draw a definite conclusion at this time.

The above histological observations definitely confirmed the conclusion that positive transplantation of mouse sarcoma into rats has been accomplished.

It may be added in passing that the histological processes involved in the establishment of the present strain of mouse sarcoma grafts in mice are essentially the same as in the case of heteroplastic grafting just described. The only differences noted were that graft and soil united more easily so that the proliferation of tumor cells started about 1 day earlier than in rats, and that the various features of the reaction of the host tissue were far milder. The mechanisms involved in the establishment of hetero- and homoplastic tumor transplantations are fundamentally identical.

Immunity Relations

Incidental to the demonstration of the extraordinary transplantability into rats of the present strain of mouse sarcoma, certain aspects of the immunity relations of the sarcoma were investigated with some interesting results.

The case of double transplantation may be first taken up. In mice, as has been stated before, the present sarcoma grows in 100% almost constantly, showing that there is practically no individual immunity among mice. A second transplantation of the sarcoma into mice bearing growing grafts of the same sarcoma also takes, and gives rise to second tumors. Conditions are different when the same mouse sarcoma was transplanted into rats, and in my series there were 49 out of 141 rats in which the sarcoma grafts failed to take. 22 of these 49 negative rats were re-transplanted with the same sarcoma, without observing a single positive take. The immunity of this sort may be considered as individual immunity.

In mice the continued growth of the present sarcoma usually leads to the death of the host, but in rats the absorption of the tumor after a good growth for a considerable period of time is not rare. I observed so far 13 such cases, and in each case re-transplantation of the same sarcoma

Double Transplantation of Mouse Sarcoma in Rats



Chart 4. Effect of primary transplantation of the mouse sarcoma in rats on the resistance to secondary transplantation of the same strain of mouse sarcoma. The secondary transplants were made immediately (simultaneously), 1 day, 2 days, 3 days or 5 days after the primary transplantation on the opposite side of the body. +: Died.

failed to take. In 8 other cases, re-transplantation was made when the tumor first showed the sign of regression or attained a certain size, and here also the complete failure of the second graft resulted.

This type of immunity, which probably depends on the preliminary absorption of some constituent substances of the tumor, may be called acquired immunity.

In other series of experiments in rats, re-transplantation was made on one side of the body at various periods of time after the primary transplantation on the opposite side, regardless of the fate of the primary grafts. As may be seen from Chart 4, both primary and secondary grafts grew when they were transplanted within 24 hours of each other. When secondary grafts were introduced 2 or 3 days or longer after the primary transplantation, there was a striking suppression of the secondary tumors, indicating that the acquired immunity developed within a short time.

The case of induced immunity may lastly be considered. Experiments were carried out using defibrinated blood and spleen emulsion from normal mice. The former was injected in 0.5 cc amounts subcutaneously in the back of a series of normal rats, while spleen emulsion, prepared by grinding the tissue in 10 times the volume of *Ringer* solution, was similarly in-

Controls					Injected with mouse blood 3 days before tumor transplantation				
	Days	5	10	15	20	5	10	15	20
1	-					-	-	-	-
2	-					-	-	-	Died
3	-					-	-	-	-
4	-					-	-	-	-
5	-					-	-	-	-

Controls					Injected with mouse blood 5 days before tumor transplantation		Injected with mouse spleen, 5 days before tumor transplantation		
	Days	5	10	15	20	5	10	15	20
1	-					-	-	-	-
2	-				Died	-	-	-	-
3	-				-	-	-	-	-
4	-				-	-	-	-	Died
5	-				-	Died	-	-	Died

Controls					Injected with mouse blood 5 days before tumor transplantation				Injected with mouse spleen 5 days before tumor transplantation								
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20		
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	Died	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	-	-	-	-	-	Died	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20		

Controls					Injected with mouse blood 16 days before tumor transplantation				Injected with mouse spleen 16 days before tumor transplantation									
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20			
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Died	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Died	
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20			

Controls					Injected with mouse blood 10 days before tumor transplantation				Injected with mouse spleen 10 days before tumor transplantation									
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20			
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Died	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Died	
	Days	5	10	15	20		5	10	15	20		5	10	15	20			

Chart 5. Effect of previous injections of mouse blood or mouse spleen emulsion into rats on the resistance to subsequent transplantation of mouse sarcoma. In each experiment all the rats, in either two or three groups, were transplanted with the same mouse sarcoma at the same time.

jected in 0.5 cc doses.

All these rats were transplanted in groups with the mouse sarcoma 3 to 16 days after the immunizing injections, always with suitable number of controls.

The results of these experiments are shown in Chart 5. It is readily

seen that the preliminary injections of normal mouse tissue can confer upon rats a certain degree of immunity to the transplantation of a mouse sarcoma, to which they are habitually less resistant.

Summary and Conclusions

1. A strain of transplantable mouse sarcoma, originally derived from a tumor produced by repeated injection of fructose, was successfully transplanted into the subcutaneous tissue of rats, the experiment being repeated over a dozen times always with similar positive result.
2. The tumors developing in rats after transplantation of the mouse sarcoma are most easily transplantable back to mice.
3. Serial transplantation of the present tumor in generations of rats have been accomplished with varying percentages of positive takes in each generation. The rate of takes in rats is lower than in mice, in which it is practically 100% even in the case of back-transplantation from rats.
4. The morphological details of the tumors growing in rats are identical with those in mice.
5. Minute histological observations were made on the changes undergone by the graft, the conditions of its union with the soil tissue, and tissue reactions on the part of the host, confirming the establishment of heteroplastic transplantation.
6. The immunity relations of the present sarcoma in mice were compared with these in rats.

要 旨

マウス肉腫の異種移植に就て

長 與 又 郎

(癌 研 究 所)

(圖版 XXXI-XXXIV)

(昭和 16 年 4 月 30 日受付)

此の實驗に用ひたる原腫瘍は果糖の反復注射によりマウスの皮下に発生したる紡錘細胞肉腫にして同種移植を重ねて第 38 世代に及びたる時、試みに 2 匹のラッテに移植したるもののが共に陽性成績を示したるに端を発したるものである。而して十数回繰返へした實驗が常に同様陽性なりしのみならず、一度ラッテに發育したる腫瘍のマウス返還移植も亦極めて容易である。組織的性状はあらゆる點に於て、マウス、ラッテの

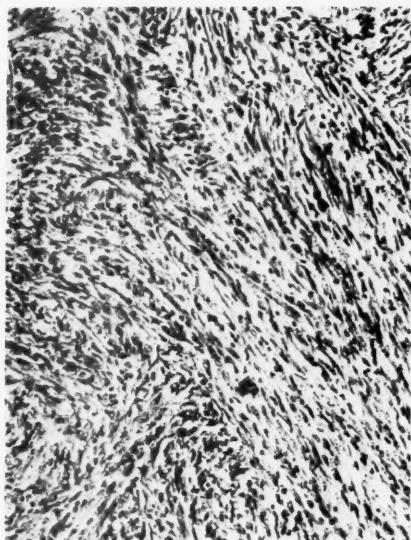


Fig. 1. The original tumor (M. 2139), showing the characteristic picture of spindle cell sarcoma in the central part. \times Ca. 150.



Fig. 2. The same, showing slightly different cellular forms in the periphery; transition to normal tissue to the lower side. \times Ca. 150.

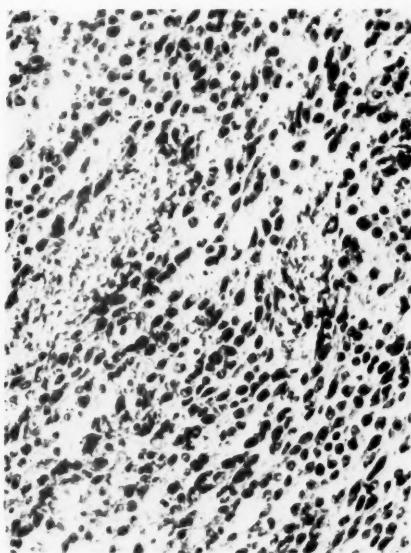


Fig. 3. A 39th generation transplant in mouse. The tumor cells are mostly of the short spindle form, resembling those in the peripheral part of the original tumor. \times Ca. 200.

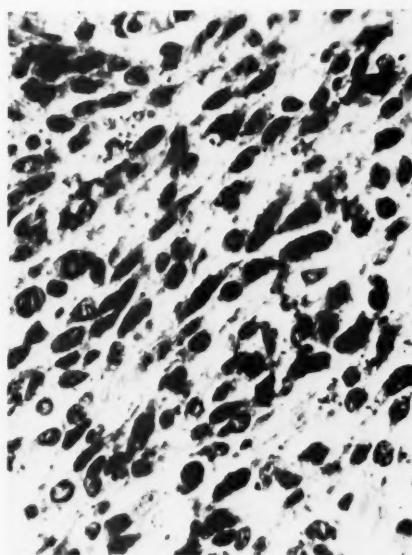


Fig. 4. Another part of the same tumor. \times Ca. 400.

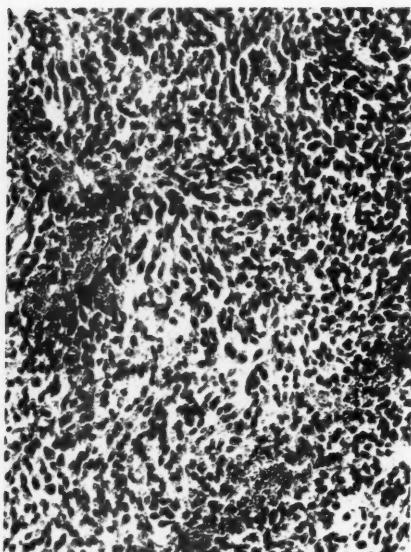


Fig. 5. A 1st generation transplant in rat (R 1) 12 days after transplantation from mouse showing the area of active cellular proliferation. \times Ca. 200.

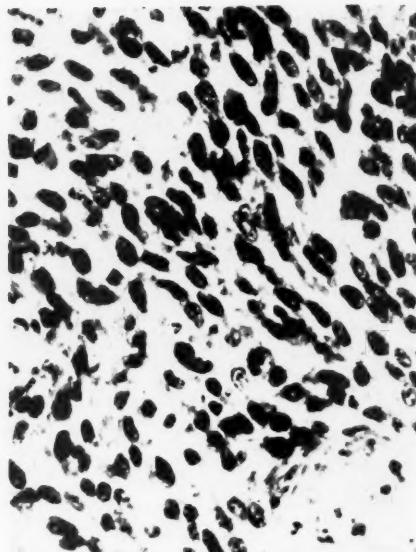


Fig. 6. Another part of the same tumor \times Ca. 400.

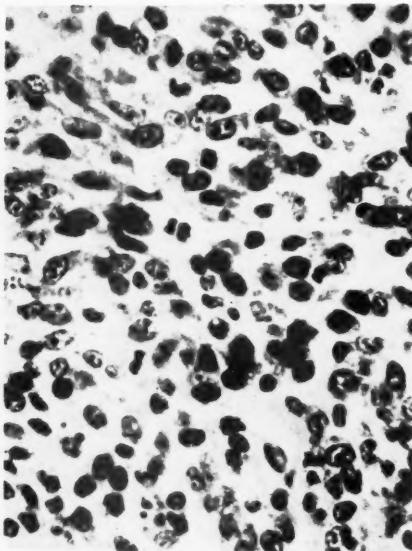


Fig. 7. Another part of the same tumor, showing many mitotic figures. \times Ca. 400.

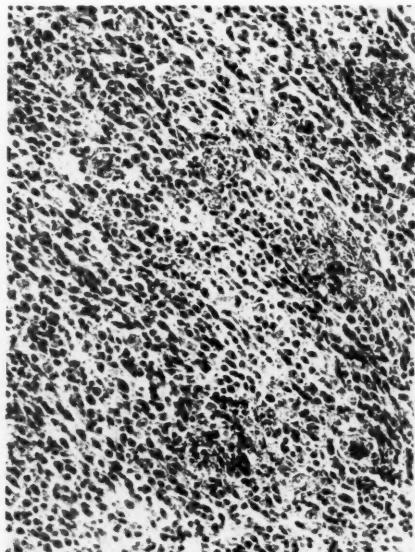


Fig. 8. A 4th generation transplant in rat (R 21), 13 days after transplantation, showing the identical cellular forms with Figs. 3 and 5. \times Ca. 200.



Fig. 9. A back-transplant in mouse from rat, 22 days after transplantation, showing the peripheral part of a large tumor which is largely necrotic (shown at left-lower corner). Skin is seen at the right upper corner. \times Ca. 150.

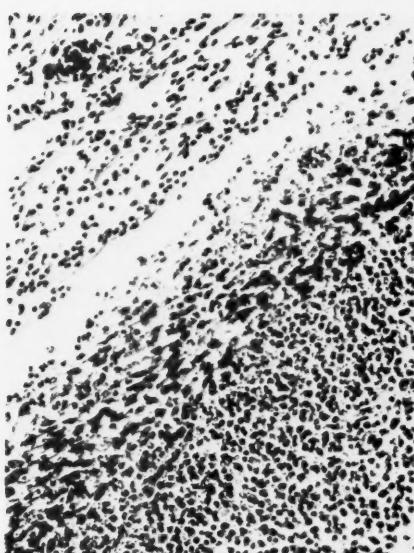


Fig. 10. A transplant in rat from mouse, 6 hours after transplantation. (R. 41). Graft is seen to the right-lower and host tissue to left upper parts of the photograph, the interspace between shows the separation of the two adherent surfaces. The tumor mostly atrophic, with remains of surviving sarcoma cells in the peripheral layer; the reaction of the surrounding tissue prominent. \times Ca. 200.

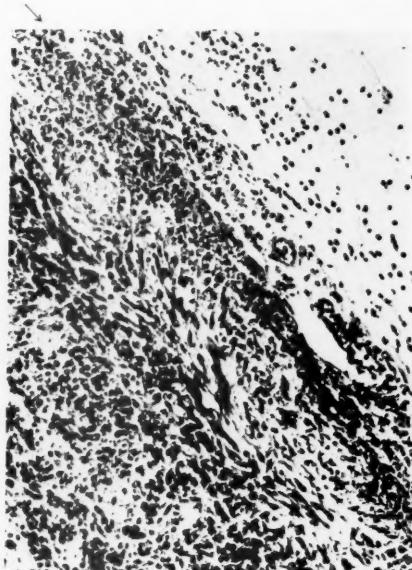


Fig. 11. Ditto, 12 hours after transplantation (R 44). The union of graft with soil about established (the line of union indicated by an arrow); cellular reaction in the surrounding tissue reduced. \times Ca. 200.

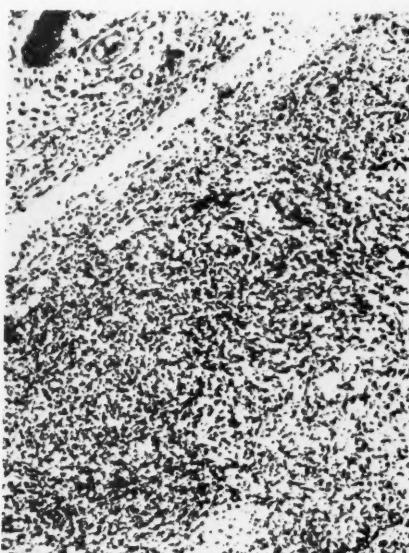


Fig. 12. Ditto, 3 days after transplantation (R 52). Proliferation of sarcoma cells commencing; rich supply of capillaries conspicuous. \times Ca. 150.

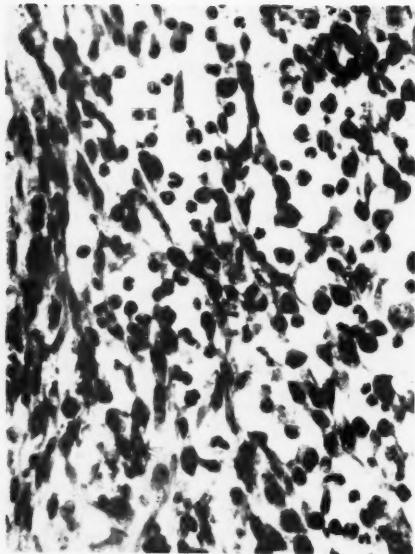


Fig. 13. A part of the same tumor as Fig. 12, under higher magnification, showing the variety of cellular forms and proliferation of capillaries. \times Ca. 350.

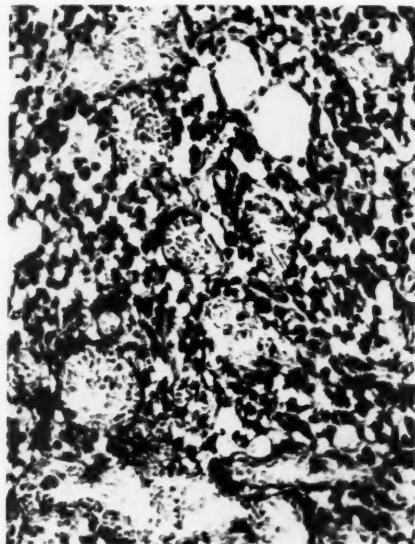


Fig. 14. A transplant in rat from mouse 4 days after transplantation (R 53), showing marked proliferation of tumor cells and many hyperemic blood capillaries. \times Ca. 250.

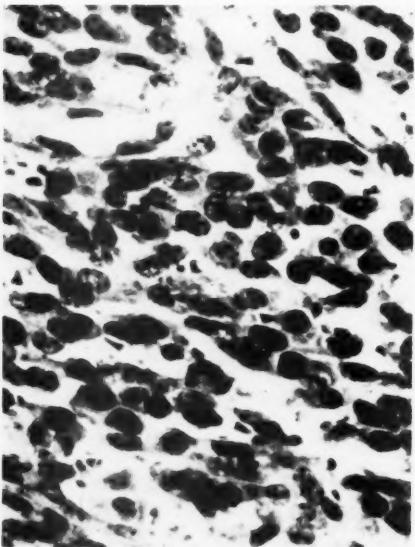


Fig. 15. Another transplant in rat from mouse, also 4 days after transplantation (R 56), showing the part in which the predominating tumor cells are of the spindle form, resembling the morphology of the original tumor. \times Ca. 450.



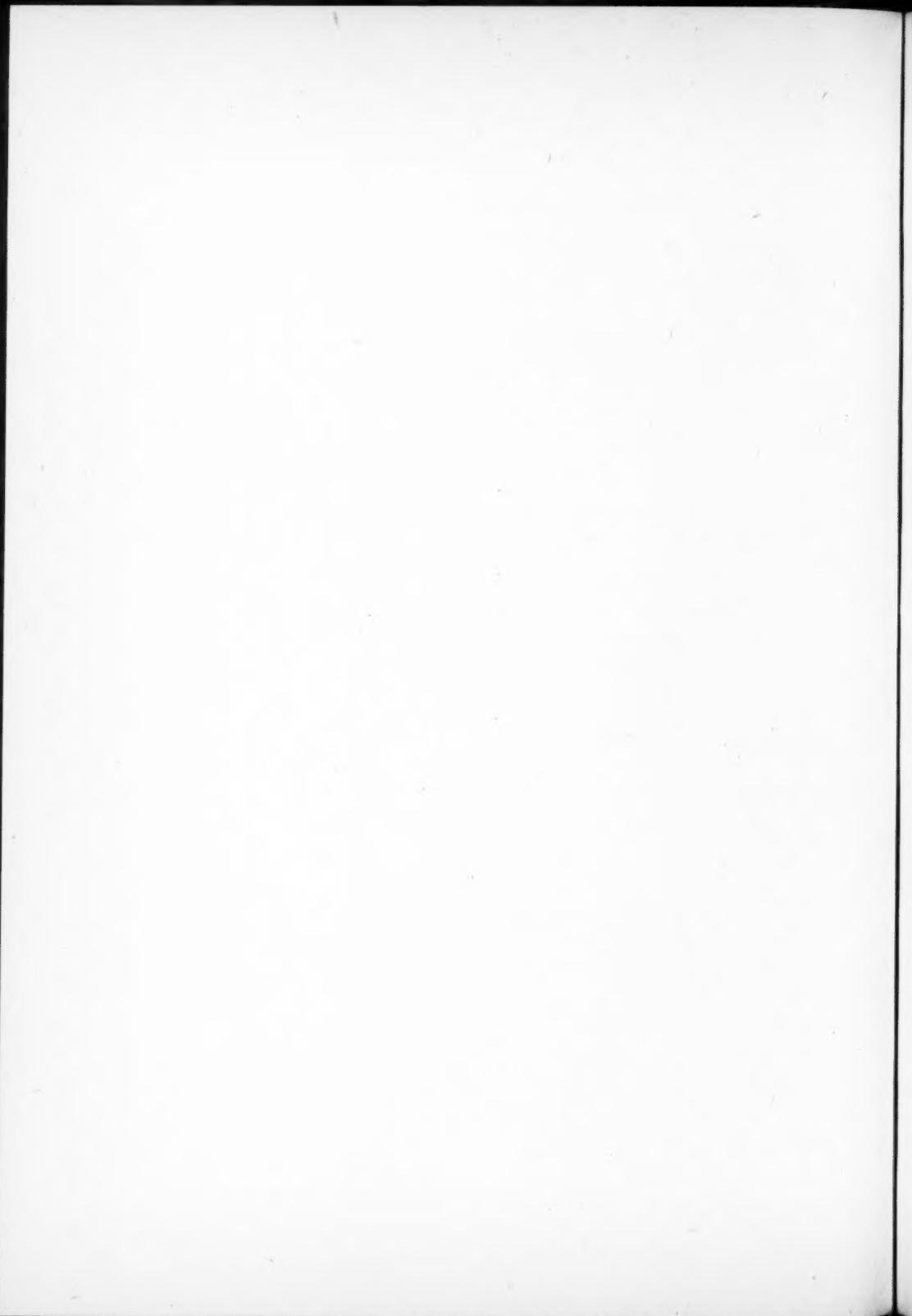
Fig. 16. A transplant in rat from mouse 8 days after transplantation (R 55), showing the appearance of fine reticular fibers (Silver preparation). \times Ca. 400.

兩者に於て常に同一である。

移植率はマウス間同種移植の場合及びラッテよりマウスへ返還せる場合は90~100%の高率であるがラッテ間の累代移植に於ては遙かに低率である。此腫瘍は家兎、海猿、家鶏等へは移植不可能であり、また腫瘍の乳糜濾液又は乾燥末を以てせる實驗も陰性である。

上述の事實に基き此の場合に於て異種移植が成立したと断じてもよいのであるが、更に確實に之を立證するために、マウスに發生した同一條件の腫瘍組織から多數の細片を取り、之を同時に多くのラッテに移植し30分、1時間、2時間から始めて12日に至る間の移植片の變化、培地たる母組織の反應、移植片と母組織との癒合成立の狀態を精密に追及検査した。その結果は移植片も大部分は短時日間に種々の退行變性に陥り、周邊部に殘存する極めて小さな腫瘍組織からのみ再生現象が認められる。そしてそれは2日或は3日頃移植片と母組織との癒合が成立して栄養供給の道が開かれると一致する。その後は急速に増生し始めは擴大性に後には浸潤性にも増殖していく。其間の經緯の詳細は略するが、此の實驗によつて異種移植が出來たことを更に確め得たのである。

免疫關係ではマウスとラッテとに於て可なり著明の相違を示してゐる、之また異種移植の成立を間接に證明してゐるものである。



"Gann", The Japanese Journal of Cancer Research is the official organ of the Japanese Cancer Association. It is published bi-monthly, the six numbers appearing in February, April, June, August, October and December, forming one volume.

The subscription price is 5 yen per year, post free. Make check, etc., payable to The Japanese Cancer Association, 2 Chome, Nishi-Sugamo, Toshima-ku, Tokyo.

All communications, including manuscripts intended for publication in "Gann", should be addressed to the Editorial Office, The Japanese Cancer Association.

投 稿 規 定

1. 寄稿者は日本癌學會會員に限ります。
2. 原稿は腫瘍に關する原著又は像報であつて、既に他の雑誌に掲載されたものでない事を要します。
3. 原稿は成る可く歐文(英, 独, 佛語)で書き、邦文抄錄を附して下さい。邦文の場合には必ず歐文抄錄を附し、圖版には歐文の説明を附して下さい。
4. 原稿は簡潔を旨とし、結論と直接關係なき論議、文献の引用等は避けて下さい。
5. 原稿は本誌 20 頁以内を原則とし、超過した場合には著者の了解の下に原稿の一部を短縮することがあります。本誌 10 頁を超へる症例報告は掲載致しません。
6. 寫眞圖版は 2 頁まで無料、夫れ以上は實費著者負擔となります。色刷圖版は原則として全部著者負担のこと。
7. 別刷は 50 部まで無料で差上げます。夫れ以上は實費を申受けます。御入用部數を原稿の初頭に朱書して下さい。
8. 校正は當方で致します。著者校正御希望の節はその旨原稿の初頭に朱書して下さい。組方の體裁は當方に御一任下さい。
9. 原稿は東京市豊島區西東郷 2 丁目 2615 「日本癌學會編輯幹事」宛御送附下さい。

附記 日本癌學會に入會御希望の方は會費（年額金 5 圓）を添へ御申込み下さい。

昭和 16 年 6 月 26 日 印刷
昭和 16 年 6 月 30 日 発行

癌	年 6 回 発 行
	一冊正價金壹圓 (郵稅金 6 錢)

編 著 者 東京市豊島區西東郷 2 丁目 2615 番地
行 代 著 者 東京市麻布區市兵衛町 2 / 88
者 代 表 著 者 東京市本郷區駒込町 172 番地
印 刷 著 者 東京市本郷區駒込町 172 番地
所 印 刷 所 会員杏林舎

